



FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

TRABAJO FIN DE GRADO
NANOSISTEMAS PARA EL
TRATAMIENTO DEL PARKINSON

Autora: Sandra Robla Álvarez

Tutora: M^a Sofía Elisa Negro Álvarez

Convocatoria: Junio

Trabajo de Fin de Grado
“Nanosistemas para el tratamiento del Parkinson”

1. RESUMEN

En los últimos años ha crecido el interés en la lucha contra enfermedades neurodegenerativas como el Parkinson. En la actualidad, las terapias contra el Parkinson se centran en la modificación de los síntomas motores para mejorar la calidad de vida de los pacientes, pero no evitan la neurodegeneración de las neuronas dopaminérgicas ni proporcionan una adecuada neuroprotección, no estando tampoco exentas de presentar efectos adversos.

Los avances en investigación han podido establecer nuevas terapias y se han desarrollado nuevos nanosistemas de administración de sustancias activas, destinados a reducir o evitar los inconvenientes de las terapias actuales. En este trabajo se analizan los sistemas nanométricos desarrollados en los últimos años, realizando una clasificación de los mismos en función de la vía de administración.

2. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

Las *enfermedades neurodegenerativas* (ENG) son un grupo de enfermedades que causan cambios importantes en el ámbito económico, laboral y social. Provocan la muerte de un elevado porcentaje de las personas que las padecen y dejan secuelas destacables que incapacitan, a quienes las sufren, de la realización de tareas sencillas.

La Enfermedad de Parkinson (EP) es el trastorno neurodegenerativo más importante tras la enfermedad de Alzheimer. Su incidencia se sitúa en torno al 1% en mayores de 65 años, y cursa con una evolución prolongada que va de 10 a 20 años (González-Torres y col., 2005). Se caracteriza por una pérdida progresiva de neuronas dopaminérgicas en la *sustancia nigra pars compacta*; estas neuronas se proyectan hacia el cuerpo estriado (constituido por putamen, caudado y globo pálido). En un enfermo de Parkinson, existe una mayor pérdida de neuronas dopaminérgicas que se proyectan al putamen y menor pérdida de las que se proyectan al caudado. Esta disminución de la dopamina causa alteraciones en la actividad de las neuronas (Figura 1) (Hernández-Montiel, 2006).

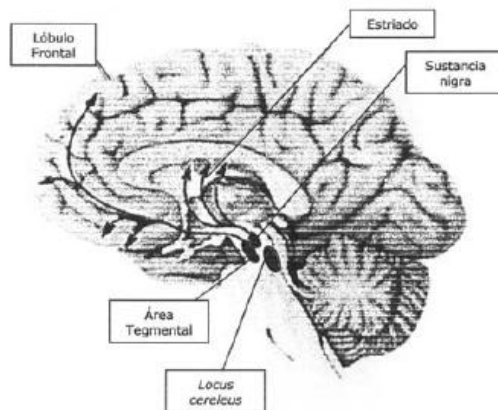


Figura 1. Localización de las lesiones en la EP. Tomado de González-Torres y col., 2005.

La enfermedad de Parkinson cursa con síntomas motores (acinesia, temblor en reposo, rigidez e inestabilidad postural), y no motores (desórdenes del sueño, trastornos neuropsiquiátricos y disfunción cognitiva) tal y como se explican en la Tabla 1:

SÍNTOMAS MOTORES	SÍNTOMAS NO MOTORES
<ul style="list-style-type: none"> ▪ <i>Acinesia:</i> dificultad para iniciar y realizar movimientos voluntarios, como caminar o escribir. Existe una dificultad para iniciar la marcha pero una vez comenzada, no se puede detener, lo que se conoce como "marcha festinante". El paciente tiene la cabeza y hombros inclinados y camina a pasos cortos, sin balancear los brazos. ▪ <i>Temblor en reposo.</i> ▪ <i>Rigidez:</i> Un paciente con enfermedad de Parkinson presenta las líneas de la cara lisas, también conocido como "cara de máscara" y respuesta emocional espontánea o escasa. ▪ <i>Inestabilidad postural</i> 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ <i>Desórdenes del sueño</i> ▪ <i>Problemas neuropsiquiátricos</i> ▪ <i>Disfunción cognitiva</i>

Tabla 1. Principales síntomas motores y no motores de la enfermedad de Parkinson.

2.1. Causas de la enfermedad de Parkinson

La etiología específica de la EP es desconocida. Múltiples factores endógenos y exógenos parecen incrementar el riesgo de desarrollo de la enfermedad. Hasta el momento se han descrito diversos mecanismos relacionados con la etiopatogénesis y la evolución de la EP. Entre ellos, los más estudiados son: factores ambientales, factores genéticos, excitotoxicidad, disfunción mitocondrial, acumulación de hierro en la SN, agregación de proteínas, inflamación, apoptosis y estrés oxidativo. Así, en sólo un

pequeño porcentaje de pacientes, en torno al 10%, se debe a la presencia de genes mutados, lo que se conoce como enfermedad de Parkinson familiar, mientras que el 90% restante es de origen desconocido (Hernández-Montiel, 2006).

A continuación se indican los posibles procesos implicados en la EP:

- ***Toxicidad de α -sinucleína: Fosforilación y agregación***

Independiente de origen de la enfermedad de Parkinson, la α -sinucleína es la proteína principal de los cuerpos de Lewy, marcador anatomopatológico de la enfermedad de Parkinson. Dicha proteína puede ver alterada su conformación y adquirir capacidad autoagregante, lo que se relaciona con el depósito de agregados proteínicos en las neuronas y podría constituir un factor fisiopatológico importante en dicha enfermedad. Los agregados poseen fibrillas de α -sinucleína alterada, y las moléculas se encuentran unidas entre sí por enlaces covalentes y no covalentes. Los enlaces covalentes se relacionan con fenómenos oxidativos que actúan sobre la molécula, principalmente peroxidación y nitrosilación de los residuos de tirosina 39, 125, 133 y 136 de la α -sinucleína. La formación de enlaces no covalentes se relaciona con el aumento de la concentración de α -sinucleína, daño mitocondrial, desestabilización neuronal y fosforilación en el residuo de serina 129 de la molécula. El hecho de que la mayor parte de las proteínas que forman los cuerpos de Lewy se encuentren fosforiladas sugiere la implicación de mecanismos de fosforilación mediados por la enzima PLK2 (Rodríguez-Nogales y col., 2015).

- ***Proteasoma-lisosoma***

El sistema ubiquitina-proteasoma y la autofagia por el lisosoma intervienen en la degradación de proteínas como la α -sinucleína, y ambos ven reducida su actividad con la edad. La autofagia se lleva a cabo por el lisosoma y está mediada por la unión de la chaperona Hsc70 a su sustrato, la α -sinucleína y posterior unión a LAMP2A para su transporte dentro del lisosoma. En los pacientes de Parkinson se ha observado una alteración genética de la α -sinucleína, de manera que esta alteración modifica su capacidad de ser procesada, provocando un exceso de α -sinucleína que da lugar a su polimerización, originando la formación de cuerpos de Lewy (Rodríguez-Nogales y col., 2015).

- **Disfunción mitocondrial y estrés oxidativo**

La mitocondria es la fuente más importante de radicales libres, generando radicales superóxido a partir de ubiquinona y NADH (complejo I). Este superóxido producido en las células, por reacciones oxidativas es normalmente convertido en peróxido de hidrógeno y peroxinitrito (ONOO⁻) por la superóxido dismutasa. Evidencias recientes sugieren que la inhibición del complejo I mitocondrial puede ser la causa central de la aparición de EP esporádica, ya que incrementa el estrés oxidativo y la formación de radicales libres, provocando la acumulación de la α -sinucleína y contribuyendo a la muerte de neuronas dopaminérgicas (Figura 2) (Hernández-Montiel, 2006).

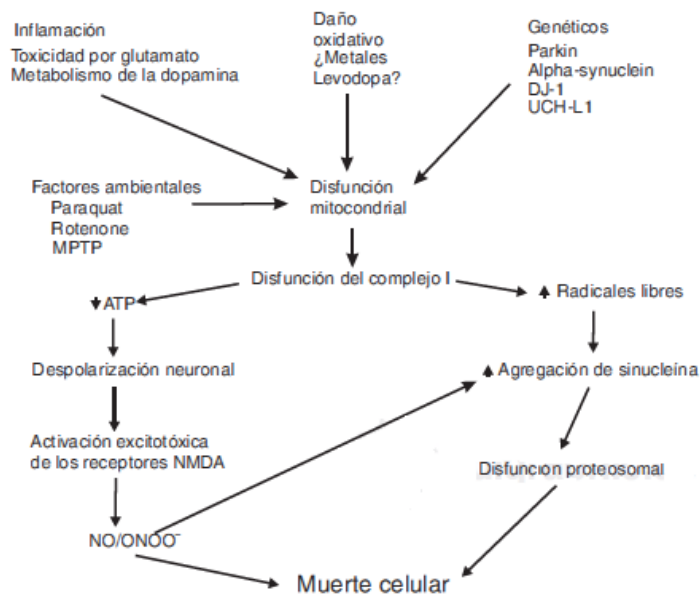


Figura 2. Alteración del complejo I en EP esporádica. Tomado de Hernández-Montiel, 2006.

- **Microglía y neuroinflamación**

Las células gliales y fundamentalmente la microglía, constituyen el sistema inmunitario del sistema nervioso central. Son las encargadas de llevar a cabo los procesos inflamatorios en el cerebro. La microglía responde a daños traumáticos o a la presencia de elementos patógenos mediante su activación, convirtiéndose en células con capacidad fagocítica capaces de secretar citoquinas inflamatorias. Cuando se activa, libera una serie de productos citotóxicos que provocan daño y muerte neuronal tales como: factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), interleucinas (IL-1 β) e interferón gamma (IFN- γ), potentes inductores del aumento de producción de NO \bullet , el cual actúa como mediador en neurodegeneración y procesos inflamatorios (Hirsch y Hunot, 2009).

La hipótesis de que las citoquinas puedan inducir muerte neuronal en neuronas dopaminérgicas no sólo es posible gracias al poder neurotóxico que caracteriza a algunas de ellas, sino que además, las neuronas dopaminérgicas presentan receptores específicos para citoquinas, como son los receptores para TNF- α . Por otra parte, se piensa también que la muerte neuronal se debe a una disminución de algunas neurotrofinas (Tabla 2) (González-Torres y col., 2005)

Factores aumentados		Factores disminuidos	
TNF- α	NO	NGF	Bcl-2
IL-1, -2, -4, -6	NO sintasa	BDNF	Glutation
TFG- β	COX-2	TNF-R1	Caspasa-1, -3
IFN- γ	PGE2	Fas Soluble	GDNF

Tabla 2. *Mediadores inflamatorios en la EP. Tomado de González-Torres y col., 2005.*

2.2.Tratamientos convencionales de la enfermedad de Parkinson

La terapéutica farmacológica del parkinsonismo se orienta hacia la recuperación del equilibrio entre los sistemas dopaminérgicos y colinérgicos, que tienen funciones contrapuestas en la regulación de los movimientos voluntarios. Para ello, en el tratamiento del Parkinson se incrementa la actividad dopaminérgica o bien se reduce la actividad colinérgica en el sistema nervioso central.

Levodopa

La **levodopa** es el fármaco básico en el tratamiento del Parkinson, ya que se transforma en dopamina al llegar al cerebro, supliendo el déficit de dicho neurotransmisor. Cuando se administra vía oral, se metaboliza periféricamente por la dopa-descarboxilasa (DD) y la catecol-O-metiltransferasa (COMT), lo que genera diversos metabolitos, responsables de sus efectos secundarios sistémicos. Por esta razón, la L-dopa se asocia a un inhibidor de la DD (carbidopa o benserazida) que no atraviesa la BHE y actúa sobre la L-dopa extracerebral, lo que permite minimizar los efectos adversos y disminuir la dosis (Pahwa y col.; 2009).

L-dopa es capaz de mejorar los síntomas motores, tales como aquinesia o bradicinesia y rigidez, y reduce los temblores. Este fármaco prolonga el tiempo durante el cual el paciente es capaz de realizar su vida normal, incrementando su esperanza de vida (Odin y col., 2008). Sin embargo no está exento de efectos adversos, ya que su uso

está asociado a la aparición de náuseas, vómitos o hipotensión ortostática. Además, después de varios años de tratamiento, los pacientes pueden sufrir alteraciones motoras y psiquiátricas (Cao y col., 2006). Las fluctuaciones motoras suponen la aparición de periodos de empeoramiento de los síntomas parkinsonianos (periodos *off*) al final de cada intervalo posológico o alternados con otros de normalidad y aquinesia (fenómenos *on/off*) y discinesias (Pahwa y col., 2009).

Agonistas dopaminérgicos

En la actualidad se dispone de una amplia variedad de agonistas dopaminérgicos, entre los que caben señalar los derivados no ergóticos tales como: pramipexol, ropinirol, rotigotina, y apomorfina (Singh y col., 2007).

Pramipexol, rotigotina y ropinirol estimulan directamente los receptores dopaminérgicos, actuando sobre las manifestaciones motoras de la enfermedad y sobre síntomas no motores, como sueño nocturno y depresión. Estos agentes tienen la ventaja que, ya sea en monoterapia o en asociación con L-dopa, reducen la incidencia de disquinesias. Producen complicaciones motoras en menor grado que Levodopa aunque también son menos eficaces en el control de los síntomas. Los efectos secundarios son frecuentes: náuseas, mareos, vómitos, psicosis o somnolencia excesiva.

La **apomorfina** es el agonista más potente que existe en la práctica clínica. Su efecto empieza muy rápido y dura muy poco. Se utiliza para mejorar de forma rápida los fenómenos *off* en determinados pacientes.

Inhibidores de la mono-amino-oxidasa (MAO-B)

El interés de los inhibidores de la MAO-B (enzima que degrada la dopamina) para tratar la EP se debe a su capacidad para disminuir la descomposición de la DA en el estriado, produciendo un aumento de la concentración del neurotransmisor en esta zona, lo que tiene como consecuencia una mejora de la función motora en estos pacientes.

Dentro de estos se encuentra las propargilaminas, como **selegilina** y **rasagilina**, inhibidores potentes y selectivos de la MAO-B, que poseen una cadena propargilo que les confiere efectos neuroprotectores. La rasagilina es entre 3-13 veces más potente, como inhibidor de la IMAO-B que la selegilina (Chen, 2006) y es eficaz tanto en monoterapia como en terapia coadyuvante con L-Dopa (Linazaroso, 2008).

Inhibidores de la catecol-o-metiltransferasa (COMT)

Entacapona y **tolcapona** bloquean otra enzima que degrada la dopamina, la COMT, y se administran siempre asociados a levodopa. Se ha confirmado la superioridad de la tolcapona a la entacapona en la reducción del tiempo *off*, sin embargo presenta toxicidad hepática (Kulisevsky y col., 2013).

Medicamentos anticolinérgicos

Biperideno o **prociclidina** inhiben la actividad del neurotransmisor acetilcolina, cuyos efectos son opuestos a la dopamina. Estos agentes son efectivos sobre el temblor, rigidez y en menor medida sobre la bradicinesia, aunque los numerosos efectos secundarios limitan su utilización.

A modo de resumen, en la Tabla 3 se muestran la mejora de los síntomas, así como la incidencia de efectos adversos en tratamientos convencionales de la EP:

	Tratamiento síntomas motores	Tratamiento síntomas no motores	Aparición de efectos 2º
Levodopa	↑↑	↓	↑
Pramipexol, rotigotina	↑	↑	↑↑
Rasagilina	N	↓	N
Entacapona, tolcapona	↑	↓	↑
Biperideno, prociclidina	↑	↓	↑↑

Tabla 3. Relación mejora de síntomas-aparición de efectos en tratamientos convencionales EP.

2.3. Inconvenientes de los tratamientos convencionales

Aunque la enfermedad de Parkinson es una prioridad importante, las terapias dopaminérgicas vistas se centran en la modificación de los síntomas motores sin tratar los *síntomas no motores* y sin proporcionar *neuroprotección* a las neuronas dopaminérgicas (Herrán y col., 2014).

Por otra parte, atravesar la *barrera hematoencefálica* es un obstáculo clave en el descubrimiento de tratamientos efectivos contra el Parkinson, siendo únicamente moléculas pequeñas con apropiada composición lipídica, peso molecular y carga, capaces de difundir desde la sangre al sistema nervioso central (Garbayo y col., 2013).

Teniendo en cuenta lo anteriormente mencionado, las nuevas estrategias terapéuticas en investigación están orientadas hacia la prevención y disminución de la muerte de neuronas dopaminérgicas en la zona nigroestriatal, a través del uso de agentes neuroprotectores (Clarke, 2004), así como al diseño de nanosistemas que faciliten el acceso de los fármacos antiparkinsonianos al lugar de acción (cerebro).

2.4. Nuevos enfoques en el tratamiento

Con el fin de solventar estos problemas que presenta llegar al cerebro, surgen nuevos DDS (*Drugs Delivery Systems*) o sistemas de administración de fármacos, como son los micro y nanosistemas, capaces de facilitar el acceso del fármaco al cerebro. Estos sistemas permiten lograr un efecto local o sistémico y pueden ser biodegradables o no biodegradables, dependiendo de la naturaleza del polímero o material usado en su preparación (Figura 3) (Garbayo y col., 2013).

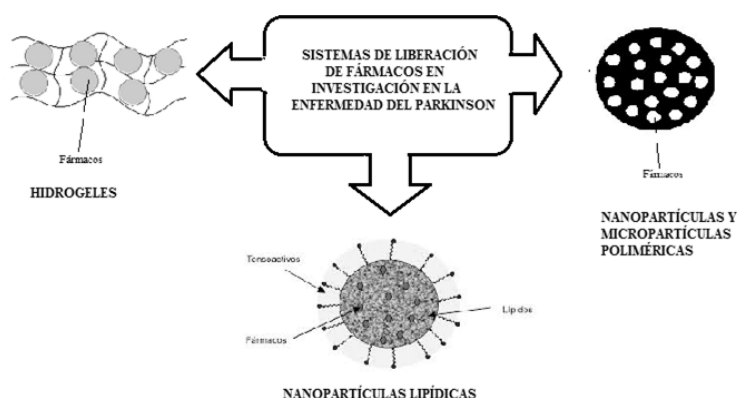


Figura 3. DDS en investigación en la EP. Tomado de Garbayo y col., 2013.

3. OBJETIVOS

El objetivo del presente trabajo es llevar a cabo una revisión bibliográfica sobre los nanosistemas existentes para el tratamiento de la enfermedad de Parkinson, así como realizar una descripción de los mismos en función de su vía de administración.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

Para cumplir con dichos objetivos, se realizó una revisión bibliográfica de trabajos publicados sobre el tema. Para la consulta de artículos bibliográficos se utilizó la base de datos Medline, analizando las publicaciones de los últimos 10 años. El sistema de Medline utilizado fue Pubmed, realizándose una búsqueda inicial por lenguaje libre e introduciéndose términos de búsqueda en inglés: *Parkinson disease, treatment, nanosystems, administration, nanoparticles*. También se consultaron artículos en español publicados en revistas científicas sobre neurobiología o nanomedicina.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tras aunar y analizar los datos obtenidos en la búsqueda bibliográfica, la información respecto los nanosistemas desarrollados para el tratamiento de la enfermedad de Parkinson se han clasificado en función de la vía de administración. Además, para cada uno de los apartados se han descrito más ampliamente alguno de los sistemas diseñados.

5.1. Nanosistemas para administración parenteral

Los nanosistemas para la administración por vía parenteral encontrados se resumen en la siguiente Tabla 4. De ellos, dos de los sistemas incorporan factores neurotróficos, que se han administrado por vía endovenosa o intracerebral.

VÍA DE ADMINISTRACIÓN	FÁRMACO	TIPO DE NANOSISTEMA	
Intracerebral	Dopamina	NP poliméricas (PAC)	
	Factores Neurotróficos	GDNF - VEGF	NP poliméricas (PLGA)
		Plásmido de GDNF	NP poliméricas (PEG)
Endovenosa	Factores Neurotróficos	hGDNF	NP poliméricas (DGL)
		pTHpro-GDNF	Nanoliposomas
Subcutánea	Levodopa + Benserazida	NP poliméricas (PLGA)	
Intraperitoneal	Dopamina	NP poliméricas (Chitosan)	

Tabla 4. *Nanosistemas para administración parenteral. NP: Nanopartículas.*

Vía Intracerebral

Rodríguez-Nogales y col (Rodríguez-Nogales y col., 2015) han desarrollado **nanopartículas poliméricas** de GDNF para administración intracerebral. Este tipo de administración no causa daños en los tejidos de alrededor del lugar de administración, al ser una invasión mínima y precisa, y además permite la liberación sostenida de fármacos en el lugar de acción.

GDNF pertenece a la subfamilia de factores neurotróficos (NTFs) de los factores de crecimiento (GFs), y actúa a través de su unión al Ret, Receptor Tirosina Kinasa (RTK), que transporta información química de las neurotrofinas hasta el interior de las células.

Para transmitir las señales, Ret requiere la unión de los ligandos de la familia de la GDNF (Figura 4). Esta unión es mediada por una proteína correceptora, GFR α 1, específica para GDNF. El homodímero GDNF-GFR α 1 inicia la cascada de señalización hacia el núcleo celular. Así, se activan vías que conducen a la expresión de genes pro-supervivencia, señalización del calcio e inhibición de factores pro-apoptosis, evitando la muerte neuronal (De Tassigny y col., 2015). Sin embargo, los factores neurotróficos presentan una serie de inconvenientes, tales como alta inestabilidad, semivida corta y dificultad para atravesar la barrera hematoencefálica (Herrán y col., 2014).

Por otra parte, el VEGF presenta poca actividad angiogénica pero gran potencial para inhibir la apoptosis y producir la proliferación de cultivos neuronales *in vitro*. (Yue y col., 2014).

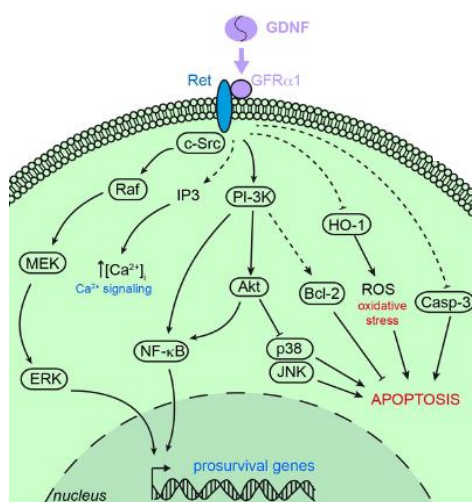


Figura 4. Vías de señalización relacionadas con la acción neuroprotectora de GDNF en neuronas dopaminérgicas. Tomado de De Tassigny y col., 2015.

Una estrategia interesante consiste en la combinación del factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF) y GDNF (Rodríguez-Nogales y col., 2015). Así, Herrán y col (Herrán y col., 2014) han desarrollado nanoesferas de PLGA 50:50 (copolímero de ácido láctico y glicólico), polímero biodegradable, con ambos factores. Dichas nanopartículas han sido preparadas por el método de extracción evaporación del disolvente. En una primera etapa se estudia el posible efecto neuroprotector de ambos factores *in vitro* y una vez comprobado dicho efecto se realizan los estudios *in vivo*.

Los animales son tratados con 6-OHDA (Herrán y col., 2014), que ocasiona una destrucción permanente ipsilateral en neuronas dopaminérgicas (De Tassigny y col., 2015). La 6-OHDA se administró unilateralmente en el cuerpo estriado derecho a través de tres inyecciones en tres regiones: anteroposterior (AP) medio-lateral (ML) y dorsoventral (DV). Al producirse una lesión unilateral en el cerebro, se produce una pérdida de neuronas dopaminérgicas, no liberándose dopamina en esa región, pero también ocurren cambios para compensar éste déficit de dopamina, produciéndose un aumento del número de receptores dopaminérgicos postinapticos en la zona.

Las nanopartículas preparadas fueron implantadas a las 3 semanas de la inyección de 6-OHDA. Treinta minutos antes de la cirugía, se trató a las ratas con desipramina y pargilina por vía intraperitoneal para proteger el sistema noradrenérgico y para inhibir la actividad de la monoaminoxidasa, respectivamente. El efecto de los factores neurotróficos en el modelo animal de Parkinson se evaluó a las 2 semanas de la administración.

- Test de rotación por anfetamina: La anfetamina estimula la liberación de dopamina en las terminaciones presinápticas del cerebro. Al existir una lesión unilateral, sólo puede ejercer su acción en el lado donde no existe daño, provocando una rotación ipsilateral (hacia el lado de la lesión).
- Test de rotación por apomorfina: La apomorfina, agonista adrenergico, se une a los receptores dopaminérgicos que están sobreexpresados en el lado del daño, provocando una rotación hacia el lado contrario a la misma (contralateral).

Por tanto, si existe una recuperación, disminuiría el número de rotaciones ante estimulación por anfetamina y apomorfina, ya que no se produciría este desequilibrio a favor de una rotación.

Se observó que, tras ambos test de rotación, las ratas que recibieron nanoesferas de GDNF mostraron una reducción del número de rotaciones en comparación con el grupo control, indicativas de una recuperación de la zona lesionada. Dicha reducción resultó superior en el grupo que recibió un tratamiento combinado de VEGF y GDNF (Herrán y col., 2014), como se observa en la Figura 5, tras la inducción de apomorfina a las 2,4,6,8 y 10 semanas tras la implantación de las nanoesferas.

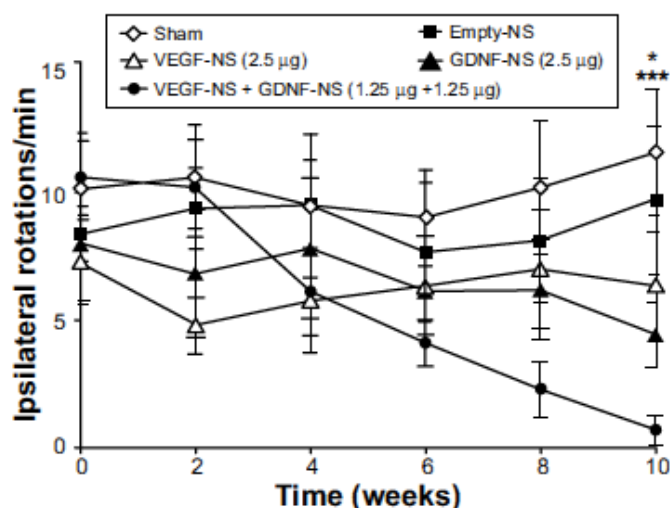


Figura 5. Número de rotaciones tras inducción de amfetamina en los diferentes grupos ensayados. Tomado de Herrán y col., 2014.

La lesión unilateral de la SN por 6-OHDA produce una disminución de los niveles de tirosina hidroxilasa (enzima limitante de la síntesis de catecolaminas). El porcentaje de fibras TH + en el hemisferio ipsilateral, en comparación con la mitad no lesionada, fue mayor en el grupo que recibió el tratamiento combinado, y en este tratamiento producía un aumento de la densidad de las neuronas dopaminérgicas.

Las NP de PLGA, al permitir la liberación selectiva de estos agentes neuroprotectores en el cerebro, preservan al fármaco de la degradación enzimática, permitiendo su distribución selectiva en el órgano diana, sin presentar toxicidad ni respuesta inmune (Herrán y col., 2014).

La administración sinérgica de VEGF y GDNF protege las neuronas y restaura los axones de neuronas del nigroestriado (Rodríguez-Nogales y col., 2015) a la vez que

permite una reducción a la mitad de la dosis, evitando posibles efectos adversos (Herrán y col., 2014).

Vía endovenosa

Puesto que la barrera hematoencefálica presenta receptores endógenos, muchas nanopartículas pueden aprovechar la capacidad de conjugarse con transferrina, glutatión, LDL o anticuerpos para poder atravesarla (Rodríguez-Nogales y col., 2015). De esta manera se han desarrollado nanosistemas que, al unirse a su región específica en el cerebro, permiten mejorar el acceso de los fármacos al mismo (Garbayo y col., 2013).

Huang y col (Huang y col., 2013) han desarrollado **nanopartículas poliméricas** conteniendo un gen terapéutico que codifica GDNF derivado de la línea humana hGDNF, con el fin de evaluar su efecto neuroprotector en la enfermedad de Parkinson. En la preparación de las nanopartículas se utiliza el Angiopep, un ligando que se une específicamente a la proteína relacionada con el receptor de lipoproteínas de baja densidad y que se expresa en la barrera hematoencefálica. Para su inclusión se conjuga con un polímero biodegradable, el dendrigraft poli-L-lisina (DGL) a través de polietilenglicol, dando lugar a la unión DGL-PEG-Angiopep (DPA).

El sistema desarrollado se evaluó mediante la inducción de rotenona, inhibidor de la respiración mitocondrial, que reproduce las características fisiopatológicas de la enfermedad de Parkinson en ratas.

Los animales que recibieron las nanopartículas que incorporaban Angiopep mostraron una alta captación celular y génica en las células del cerebro en comparación con los que recibieron las nanopartículas que no contenían el ligando. Además, presentaron una mejoría en la actividad relacionada con el movimiento y una recuperación de las neuronas dopaminérgicas.

Angiopep podría considerarse, por tanto, como un buen ligando para el receptor de lipoproteínas de baja densidad LRP, ya que éste receptor permite una buena entrada del mismo en el cerebro. Por otra parte, DGL, al ser biodegradable presenta pocos problemas de toxicidad, y las nanopartículas obtenidas presentan una elevada eficacia de encapsulación (Huang y col., 2013).

5.2. Nanosistemas para administración transdérmica

El ropinirol es un agonista de la dopamina que se comercializa en forma de comprimidos. Su biodisponibilidad oral es baja y su semivida corta. Además, tiene un bajo peso molecular y es suficientemente lipofílico para que puede atravesar la piel, por todo ello es un candidato adecuado para su administración por vía transdérmica. Los sistemas de administración percutánea pueden ayudar en la reducción de la dosis y de los efectos secundarios, siendo útil en población geriátrica con disfagia, aumentando el cumplimiento por parte de la misma.

Azeem y cols (Azeem y col.; 2009) han diseñado un sistema de administración transdérmico, en concreto una **nanoemulsión** de ropinirol. Las ventajas de las nanoemulsiones para la administración transdérmica de fármacos son:

- Presentan una gran capacidad de solubilización, por lo que en ellas puede ir incorporada una gran cantidad de fármaco.
- Se puede modificar la velocidad de penetración del fármaco mediante la modificación de la afinidad del mismo a la fase interna, variando tanto la composición como la proporción de los componentes de la nanoemulsión.
- Pueden interactuar con el estrato córneo, produciendo cambios en la organización estructural de sus capas y aumentando la permeabilidad transdérmica de fármacos. Estos sistemas actúan como potenciadores de la penetración por sí mismos, evitando la incorporación de potenciadores químicos que pueden ocasionar irritación.

Se busca obtener una nanoemulsión gel lo suficientemente viscosa para que no pudiese ser eliminada rápidamente de la piel y para ello se utilizaron, además del ingrediente activo (ropinirol), Capryol 90 (fase oleosa), Tween 20 (tensoactivo), Carbitol (co-tensoactivo), agua (fase acuosa) y el polímero Carbopol 934 (gelificante).

Por tanto, se elaboraron nanoemulsiones con diferentes proporciones de fase oleosa, agente tensoactivo, agente co-tensoactivo, y agua, evaluándose los efectos de los ingredientes de la formulación sobre la permeación de ropinirol.

Los resultados mostraron que la permeabilidad del ropinirol disminuye conforme hay un aumento de la concentración de polímero, ya que tenía lugar un aumento de la viscosidad del sistema (la permeación es inversamente proporcional a la viscosidad del medio). La administración de ropinirol en nanoemulsión producía su liberación gradual

a través de la piel en comparación con un gel convencional (Figura 6) (Azeem y col.; 2009). El incremento de ácido tiobarbitúrico, reducción de glutatión y reducción de actividad catalasa, parámetros característicos en la enfermedad de Parkinson, mejoraron después de la administración transdérmica de la nanoemulsión (Rodríguez-Nogales y col., 2015).

Por tanto, los resultados de la presente investigación sugieren un papel prometedor de las nanoemulsiones en la mejora de la penetración percutánea de ropinirol (Azeem y col.; 2009).

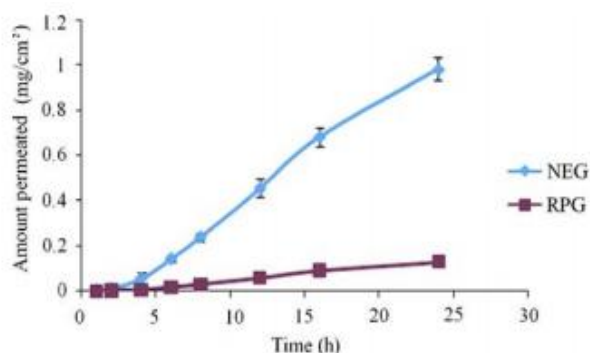


Figura 6. Liberación de ropinirol en nanoemulsión (NEG) frente a liberación en gel convencional (RPG) Tomado de Azeem y col.; 2009.

5.3. Nanosistemas para administración nasal

La administración de levodopa por vía oral tiene ciertas desventajas: por una parte sufre un efecto de primer paso hepático que ocasiona su degradación y disminuye su actividad terapéutica. Por otra parte, su efecto terapéutico disminuye de manera gradual conforme avanza la enfermedad, teniendo que aumentar la dosis de fármaco para mantener el efecto deseado. Asimismo, su semivida es corta, y sus fluctuaciones en su absorción gastrointestinal pueden ocasionar el efecto bifásico *on/off*.

La administración de levodopa por vía nasal evita el efecto de primer paso hepático, aumentando así su eficacia terapéutica. Esta vía se caracteriza porque es de fácil acceso, tiene una gran área de superficie, membrana endotelial porosa, y está muy irrigada.

Gambaryan y cols (Gambaryan y col., 2014) han desarrollado **nanopartículas poliméricas** para administración nasal con el fin de paliar los inconvenientes de la administración oral de levodopa. El tamaño de partícula fue de 250 ± 50 nm, la encapsulación de L- dopa fue 10 ± 2 %.

Estas nanopartículas, constituidas por PLGA (50/50) y levodopa se administraron a uno de los 5 grupos utilizados en el estudio. De los grupos restantes, uno se estableció

como control: las ratas que lo conformaban no sufrieron lesión por 6-OHDA y se les administró NP de PLGA no cargadas. Los otros cuatro grupos fueron tratadas con 6-OHDA, y se les administró respectivamente: (1) NP de PLGA no cargadas, (2) NP de PLGA cargadas con L-dopa, (3) una solución de levodopa y (4) una solución de levodopa + benserazida. Cada grupo recibió, diariamente, su tratamiento.

El efecto de las nanopartículas se evaluó frente a una solución de L-dopa, así como frente a la combinación de L-dopa + benserazida. Y tras 13 semanas de tratamiento se observó que:

- Tras analizar la coordinación motora de los animales y el comportamiento 30 minutos después de la primera administración, los animales tratados con L-dopa, L-dopa+benserazida y nano-L-dopa mostraron mejoras significativas en el rendimiento de coordinación en comparación con el grupo no tratado.
- Tras 4 semanas de tratamiento, el rendimiento de la coordinación en el grupo de nano-L-dopa fue dos veces mejor que en los grupos tratados con L-dopa y L-dopa+benserazida. Además, estos grupos no muestran diferencias significativas respecto a los no animales tratados, efecto que se mantiene una semana después de la suspensión del tratamiento (Figura 7).

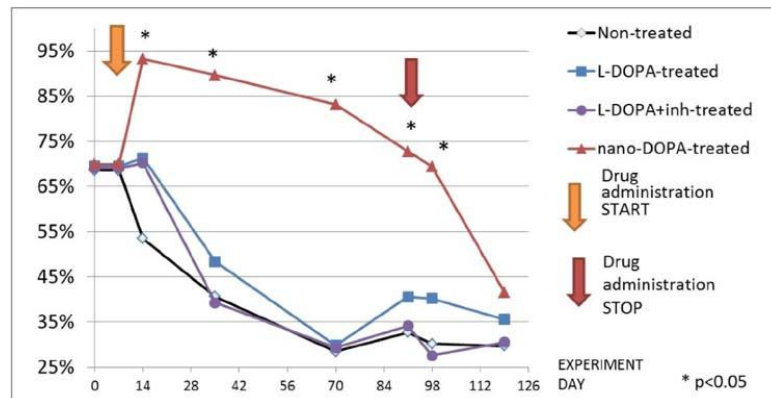


Figura 7. Rendimiento de la coordinación en los grupos con enfermedad de Parkinson inducida. Tomado de Gambaryan y col.; 2014.

L-dopa administrada en forma de nanopartículas de PLGA y administrada por vía intranasal ejerce un efecto prolongado de la restauración de la función motora y puede permitir una reducción considerable de la dosis de fármaco y de la frecuencia de administración. Por tanto, potencialmente representa un sistema prometedor para la

administración crónica de L-dopa en la práctica clínica de la terapia de la enfermedad de Parkinson (Gambaryan y col.; 2014).

Finalmente indicar que también han sido desarrolladas nanopartículas de Chitosan para la liberación controlada de bromocriptina y rasagilina (Garbayo y col., 2014), así como nanopartículas lipídicas con factor de crecimiento fibroblástico (Zhao y col; 2014) (Tabla 5), obteniéndose un buen control de la liberación de los ingredientes activos.

VÍA DE ADMINISTRACIÓN	FÁRMACO	TIPO DE NANOSISTEMA
Intranasal	Levodopa	NP poliméricas (PLGA)
	Bromocriptina	NP poliméricas (Chitosan)
	Rasagilina	NP poliméricas (PLGA)
	Factores de Crecimiento	NP lipídicas sólidas

Tabla 5. *Nanosistemas para administración intranasal. NP: Nanopartículas.*

5.4. Nanosistemas para administración oral

La apomorfina es un agonista del receptor de dopamina para el tratamiento del Parkinson que presenta una baja biodisponibilidad oral debido al efecto de primer paso. Se desarrollaron **nanopartículas lipídicas sólidas** (SLNs) de dos tipos: unas con monoestearato de glicerol (GMS) y otras con monoestearato de polietilenglicol (PMS).

La actividad anti-parkinsoniana de apomorfina se evaluó en ratas con lesiones por 6-hidroxdopamina, induciendo un modelo de la enfermedad de Parkinson. Se observó que ambos sistemas mejoraban la biodisponibilidad de la apomorfina, unas 12 a 13 veces más que la solución de referencia. Comparando ambos, el sistema PMS fue más estable, en términos de tamaño de partícula y la eficiencia de encapsulación, que el sistema GMS. Por tanto, los resultados sugieren que las SLNs pueden ofrecer una estrategia prometedora para la administración de apomorfina por vía oral (Tsai y col.; 2011).

6. CONCLUSIONES

El origen de la enfermedad de Parkinson sigue siendo desconocido, por lo que los mecanismos subyacentes de la etiología PD será la clave para desarrollar terapias sintomáticas y neuroprotectoras modificadoras de la enfermedad. La utilización de sistemas nanométricos de liberación controlada en el tratamiento de la enfermedad de Parkinson podría ofrecer grandes beneficios al permitir dirigir de forma controlada y/o selectiva los activos al lugar de acción, especialmente para aquellos cuyas características físico-químicas, biofarmacéuticas y/o farmacocinéticas comprometen su uso terapéutico.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Azeem, A., Ahmad, F.J., Khar, R.K., Talegaonkar, S. Nanocarrier for the Transdermal Delivery of an Antiparkinsonian Drug. *AAPS Pharm. Sci. Tech.* 10(4):1093-1103, 2009.
- Cao, X.B., Guan, Q., Xu, Y., Wang, L. y Sun, S.G. Mechanism of overactivation in direct pathway mediated by dopamine D (1) receptor in rats with levodopa-induced dyskinesia. *Neurosci. Bull.* 22: 159-164, 2006.
- Chen, J.J. Pharmacology and pharmacokinetics of rasagiline: a selective, irreversible, second-generation MAO-B inhibitor. *Formulary*, 41: 18-24, 2006.
- Clarke, C. Neuroprotection and pharmacotherapy for motor symptoms in parkinson's disease. *Lancet Neurol.*, 3; 466-474, 2004
- De Tassigny, X. D. A., Pascual, A., López-Barneo, J. GDNF-based therapies, GDNF-producing interneurons, and trophic support of the dopaminergic nigrostriatal pathway. Implications for Parkinson's disease. *Front. Neuroanat.* 9 (10): 1-15, 2015.
- Gambaryan, P.Y., Kondrasheva, I.G., Severin, E.S., Guseva, A.A., Kamensky, A.A. Increasing the Efficiency of Parkinson's Disease Treatment Using a poly(lactic-co-glycolic acid) based L-DOPA Delivery System. *Exp. Neurobio.*, 23(3):246-252, 2014.
- Garbayo, E., Ansorena, E., Blanco-Prieto, M.J. Drug development in Parkinson disease: From emerging molecules to innovative DDS. *Maturitas.* 76(3): 272-278, 2013.
- González-Torres, L. C., Armendáriz-Borunda, J. Aspectos inmunológicos en la enfermedad de Parkinson. *Arch. Neurosci.*, 10(3): 168-174, 2005.
- Hernández-Montiel, H. L. Aspectos moleculares y prospectos de terapias en la enfermedad de Parkinson. *Bioquímica.* 31(4):146-158, 2006.
- Herrán, E., Requejo, C., Ruiz-Ortega, J. A., Aristieta, A., Igartua, M., Bengoetxea, H., Hernández, R. M. Increased antiparkinson efficacy of the combined administration of

- VEGF-and GDNF-loaded nanospheres in a partial lesion model of Parkinson's disease. *Int. J. Nanomed.*, 9: 2677-2687, 2014.
- Hirsch, E.C. y Hunot, S. Neuroinflammation in Parkinson's disease: a target for neuroprotection. *Lancet Neurol.*, 8: 382–397, 2009.
- Huang, R., Ma, H., Guo, Y., Liu, S., Kuang, Y., Shao, K., An, S. Angiopep-conjugated nanoparticles for targeted long-term gene therapy of Parkinson's disease. *Pharm. Research*. 30(10): 2549-2559, 2013.
- Kulisevsky, J., Luquin, M.R., Arbelo, J.M., Burguera, J.A., Carrillo, F., Castro, A., Chacón, J., García-Ruiz, P.J., Lezcano, E., Mir, P., Martínez-Castrillo, J.C., Martínez-Torres, Puente, V. Enfermedad de Parkinson avanzada. Características clínicas y tratamiento. II. *Neurología*. 28 (9): 558-583, 2013.
- Linazoroso, G. Rasalina en la enfermedad de parkinson. *Neurología*, 23: 238-245. 2008.
- Odin, P., Wolters, E. y Antonini, A. Continuous dopaminergic stimulation achieved by duodenal levodopa infusion. *Neurol. Sci*. 29 (5): 387-388, 2008.
- Pahwa, R. y Lyons, K.E. Levodopa-related wearing-off in Parkinson's disease: identification and management. *Curr. Med. Res. Opin*. 25(4): 841-849, 2009.
- Rodríguez-Nogales, C., Garbayo, E., Carmona-Abellán, M.M., Luquin, M.R., Blanco-Prieto, M.J. Brain aging and Parkinson's disease: New therapeutic approaches using drug delivery systems. *Maturitas*. 84: 25-3., 2015.
- Singh, N., Pillay, V. y Choonara, Y.E. Advances in the treatment of Parkinson's disease. *Prog. Neurobiol*. 81: 29-44, 2007.
- Tsai, M. J., Huang, Y. B., Wu, P. C., Fu, Y. S., Kao, Y. R., Fang, J. Y. Oral apomorphine delivery from solid lipid nanoparticles with different monostearate emulsifiers: pharmacokinetic and behavioral evaluations. *J. Pharmac. Sci*. 100(2), 547-557, 2011.
- Yue, X., Hariri, D. J., Caballero, B., Zhang, S., Bartlett, M. J., Kaut, O., Falk, T. Comparative study of the neurotrophic effects elicited by VEGF-B and GDNF in preclinical in vivo models of Parkinson's disease. *Neuroscience*. 258: 385-400, 2014.
- Zhao, Y. Z., Li, X., Lu, C. T., Lin, M., Chen, L. J., Xiang, Q. Gelatin nanostructured lipid carriers-mediated intranasal delivery of basic fibroblast growth factor enhances functional recovery in hemiparkinsonian rats. *Nanomed. Nanotech., Biology and Medicine*. 10(4): 755-764, 2014.