



**FACULTAD DE FARMACIA**  
**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**

**TRABAJO FIN DE GRADO**  
**NANOSISTEMAS DE TERAPIA GÉNICA EN PATOLOGÍAS DEL**  
**SEGMENTO POSTERIOR DEL OJO**

Autora: Esther Iglesias Pinelas

Tutora: Irene Bravo Osuna

Convocatoria: Julio 2020

ÍNDICE	pág.
1. INTRODUCCIÓN	3
1.1 EL OJO	3
1.2 PATOLOGÍAS OFTÁLMICAS DEL SEGMENTO POSTERIOR	5
1.3 TERAPIA GÉNICA	8
2. OBJETIVOS	10
3. METODOLOGÍA	10
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	10
4.1 VÍAS DE ADMINISTRACIÓN EN TERAPIA GÉNICA OCULAR	10
4.1.1. ADMINISTRACIÓN INTRAOCULAR	10
4.1.2. ADMINISTRACIÓN PERIOCULAR	10
4.1.3. ADMINISTRACIÓN SISTÉMICA	11
4.1.4. ADMINISTRACIÓN TÓPICA	11
4.2 TIPOS DE VECTORES EVALUADOS EN TERAPIA GÉNICA PARA EL TRATAMIENTO DE PATOLOGÍAS DEL SEGMENTO POSTERIOR DEL OJO.	11
4.2.1 VECTORES VIRALES	11
4.2.1.1. RETROVIRUS	11
4.2.1.2. ADENOVIRUS	12
4.2.1.3 VIRUS ADENOASOCIADOS (VAA)	12
4.2.1.4. HERPER VIRUS	12
4.2.2 VECTORES NO VIRALES (NANOSISTEMAS)	13
4.2.2.1 LIPOSOMAS	13
4.2.2.2 NANOEMULSIONES	14
4.2.2.3 NANOPARTÍCULAS	14
4.2.2.4 NANOPARTÍCULAS SÓLIDAS LIPÍDICAS (SLN)	17
4.2.2.5 DENDRÍMEROS	17
5. PRINCIPALES TRABAJOS PUBLICADOS HASTA LA FECHA	17
6. CONCLUSIONES	18
7. BIBLIOGRAFÍA	19

## RESUMEN

Algunas de las patologías que derivan en ceguera son alteraciones genéticas que afectan al segmento posterior del globo ocular. Por tanto, estudiaremos la anatomía del ojo así como sus principales afecciones cuyos tratamientos van a estar basados en la transferencia de material genético como sustancias activas, mediante vectores virales o no virales. Al tratarse de patologías muy localizadas es necesario tanto nuevos sistemas que permitan su liberación y permanencia en el lugar de acción así como vías de administración adecuadas.

### 1. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

Las patologías del segmento posterior del ojo son las principales causas de ceguera en países desarrollados. Existen diversos tratamientos convencionales focalizados en paliar o curar dicha afección, sin embargo, en este trabajo vamos a centrarnos en los nanosistemas basados en la terapia génica.

#### 1.1 EL OJO

El ojo o globo ocular es el órgano de la visión. Posee una forma esférica y se encuentra ubicado en el interior de la cavidad orbitaria, rodeado por grasa. El ojo presenta, a su vez, tres capas de revestimiento que lo conforman y las cuales se diferencian unas de otras tanto en su función como en contenido. Estas tres capas dispuestas concéntricamente son:

- **Túnica externa:** se encuentra localizada en la superficie del ojo. Es la cubierta que protege al ojo y constituye una capa resistente, formada a su vez por dos segmentos: la córnea y la esclerótica. La córnea es un tejido conectivo denso y sin vasos. Es la estructura refringente más importante del ojo. Por su parte, la esclerótica está formada por colágeno y fibras elásticas, es la capa protectora del ojo.
- **Túnica media o úvea:** formada por el iris, el cuerpo ciliar y la coroides. Forma la zona vascular del ojo con una elevada presencia de vasos sanguíneos, pigmentos y tejido conectivo, fundamentalmente.
- **Túnica interna o retina:** capa neurosensorial encargada de recibir los estímulos luminosos y llevarlos a través del nervio óptico para ser traducidos en imágenes en el cerebro. Constituye la capa donde se ubican los fotorreceptores (conos y bastones). Debido a su papel principal en el comienzo del proceso de la visión, en la retina se ubican tres componentes celulares distintos: elementos neuronales, elementos gliales y células pigmentarias. A su vez, la retina está integrada por dos capas: el epitelio pigmentario y el neuroepitelio<sup>1</sup>.

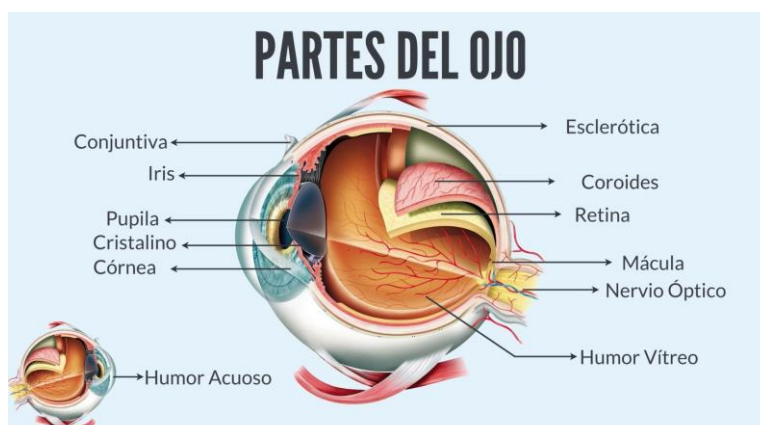


Figura 1. Anatomía y partes del ojo humano. Brill Pharma. ▷ Las 12 PARTES del OJO HUMANO: Conoce su Anatomía [Internet]. Brill Pharma S.L. Disponible en: <https://www.brillpharma.com/anatomia/partes-del-ojo/>

El epitelio pigmentario está formado por una única capa de células que conectan directamente con la coroides ubicada en la túnica media. La siguiente capa, el neuroepitelio, está formado a su vez por nueve capas distintas: capa de fotorreceptores, limitante externa, nuclear externa, plexiforme externa, nuclear interna, plexiforme interna, capa de células ganglionares, capa de fibras del nervio óptico, y la capa limitante interna.

Los elementos neuronales van a tener un papel importante basado en la recogida, elaboración y transmisión de los estímulos sensoriales encargados de la visión a través de las vías nerviosas. En este apartado cabe destacar los fotorreceptores, encargados de absorber las radiaciones de la luz y transformarlas en impulsos eléctricos. Son de dos tipos: conos, encargados de la visión fotópica y de los colores; y bastones, encargados de la visión escotópica. Otros elementos neuronales que juegan un papel importante son las células bipolares, encargadas del primer paso en la transmisión del impulso eléctrico en la vía óptica; las células ganglionares, que constituyen la segunda neurona en esa vía óptica; y un conjunto de células horizontales y de asociación que conectan de forma aferente y eferente con el resto del entramado nervioso de la visión<sup>2</sup>.

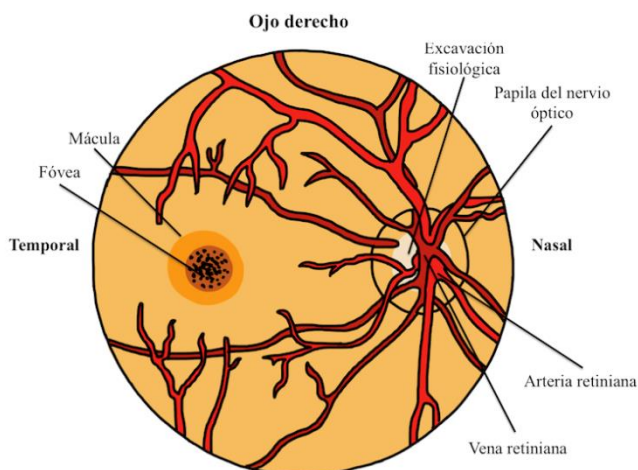


Figura 2. Esquema de fondo de ojo normal, ojo derecho. Ríos Zuluaga JD, Bettin Torres L, Naranjo Salazar S, Suárez Garavito JA, De Vivero Arciniegas C. Pautas para el examen oftalmológico. Enfoque para el estudiante de medicina y el médico general. Univ Médica. 2017 Apr 1;58(2).

En la retina destacan fundamentalmente dos zonas diferenciadas: la mácula y la papila. Respecto a la mácula, es la zona de mayor agudeza visual y óptima para la formación de la imagen. Predominan los conos, lo que confiere alta calidad visual. A este nivel, además de los fotorreceptores, nos vamos a encontrar una sola capa de células ganglionares y una zona central que presenta un área más oscura y ligeramente deprimida que es la fóvea. La fóvea está a 3-4 mm de la papila en dirección temporal, donde la retina tiene sólo la mitad de su espesor habitual y existe la máxima concentración de fotorreceptores, casi todos ellos conos. Por otro lado, la papila (conocida también como “punto ciego”) carece de elementos neuronales ya que es la parte donde los axones ganglionares se reúnen para formar el nervio óptico.

Además, para facilitar el estudio del globo ocular, se habla de dos segmentos, anterior y posterior. El segmento anterior comprende la parte del mismo situada desde la córnea hasta el cristalino inclusive. Éste, a su vez, está subdividido en cámara anterior (entre la superficie corneal y el iris) y posterior (entre el iris y el cristalino); ambas bañadas por humor acuoso.

El segmento posterior es la parte situada tras el cristalino, que engloba al cuerpo vítreo, la retina y el nervio óptico.

## 1.2 PATOLOGÍAS OFTÁLMICAS DEL SEGMENTO POSTERIOR

Las patologías neurodegenerativas que afectan al segmento posterior del ojo se caracterizan por ser devastadoras y comprometer la visión en un gran número de sujetos.

### a. Retinitis/retinosis pigmentaria:

La retinitis pigmentaria (RP) engloba un grupo heterogéneo de enfermedades hereditarias caracterizadas por una progresiva alteración de los fotorreceptores (conos y bastones) con atrofia del epitelio pigmentario, afectando de forma global al fondo de ojo. La etapa de aparición es, frecuentemente, la adolescencia. Los primeros síntomas visuales que experimentan los pacientes son la ceguera nocturna y la pérdida de campo visual periférico. La visión central se mantiene preservada hasta fases avanzadas de la enfermedad. Sin embargo, el grado de progresión y la herencia varían de unas formas a otras. Se puede heredar de forma dominante, recesiva o ligada al cromosoma X o de forma esporádica. La misma mutación genética puede causar diferentes síntomas en distintas personas y el mismo síndrome puede ser causado por diferentes mutaciones<sup>3</sup>.

### b. Coroideremia

La coroideremia (CHM) es una distrofia coriorretiniana ligada al cromosoma X caracterizada por una degeneración progresiva de la coroides, el epitelio pigmentario de la retina (EPR) y la retina. Su prevalencia se estima en 1/50.000-1/100.000. Los hombres afectados experimentan nictalopía en la primera y segunda década de vida seguida por una constricción del campo visual periférico que progresa desde escotomas anulares a pérdida concéntrica del campo visual. En paralelo, se observan cambios en el fondo del ojo que consisten inicialmente en un punteado pigmentado y áreas focales de la atrofia de la coroides en la zona ecuatorial del fondo del ojo. En la etapa final, se dan importantes cambios degenerativos del EPR con vestigios de la vasculatura coroidea evidentes en la mácula, lejos de la retina periférica, y cerca del disco óptico. Las mujeres portadoras normalmente no presentan ninguna deficiencia visual grave, pero pueden mostrar anomalías visibles en el fondo del ojo como cambios de pigmentación en la periferia muy parecidos al característico moteado fino de las etapas iniciales en varones. La CHM está causada por mutaciones en el gen *CHM* ligado al cromosoma X que codifica para la proteína REP-1, GTPasa ligada a Ras. La REP-1 es esencial en la activación post-traducciona y en la localización subcelular de las proteínas de unión a GTP Rab, que controlan el tráfico de vesículas en vías secretoras y endocíticas. Las mutaciones en *CHM* dan lugar a un deterioro en la asociación de proteínas Rab con las membranas donadoras, lo que conduce a la muerte celular<sup>4</sup>.

### c. Degeneración macular asociada a la edad (DMAE)

La Degeneración Macular Asociada a la Edad (DMAE) es una patología degenerativa ocular que consiste en una lesión o deterioro de la mácula, parte de la retina responsable de la visión central y de la percepción fina de los detalles. Por esto, la afectación de la mácula sólo va a afectar a la visión central y en ningún caso a la visión periférica. Las causas que las producen son complejas, pudiendo ser consecuencia de una disminución del flujo sanguíneo, formación de depósitos de desechos metabólicos de la retina (drusas) e incluso en algunos tipos de DMAE se pueden formar nuevos vasos debajo de la retina (neovasos). También se pueden dar lugar a alteraciones del epitelio

pigmentario de la retina (EPR) como hipo e hiperpigmentación y atrofia geográfica del EPR y la coriocapilar que afecta el centro de la fóvea<sup>5</sup>.

La lesión de dicha zona es una de las principales causas de pérdida de visión irreversible en los países desarrollados, teniendo en España una prevalencia de un 13% en personas mayores de 65 años<sup>6</sup>.

Afectan diversos factores tanto intrínsecos como extrínsecos en esta patología, sin embargo, el factor genético es clave en esta patología. La Universidad de Duke indica la existencia de una fuerte asociación entre el desarrollo de la DMAE y la presencia de una variante de un gen conocido como factor H del complemento (CFH). Esta deficiencia del gen se asocia con casi la mitad de todos los casos potencialmente causantes de ceguera producida por la degeneración macular. La Columbia University Medical Center y otros investigadores encontraron que las variantes de otro gen, el factor de complemento B, también pueden estar involucrados en el desarrollo de la DMAE. Recientemente se ha asociado la DMAE neovascular con el polimorfismo del gen MSD (Manganese Superoxide Dismutase)<sup>7</sup>.

#### d. Enfermedad de Stargardt

Es una forma autosómica recesiva de distrofia retiniana que, por lo general, se caracteriza por una pérdida progresiva de la visión central asociada a la presencia de un moteado macular y perimacular irregular blanco-amarillento en el fondo de ojo, así como una lesión atrófica macular central con aspecto de "bronce golpeado". La prevalencia se estima en 1/8.000 - 1/10.000, siendo ambos sexos igualmente afectados. Dicha pérdida progresiva de la visión central causa visión borrosa y, en ocasiones, una dificultad creciente para adaptarse en la oscuridad. La visión periférica suele ser normal. La mayoría de las personas afectadas también tienen problemas de visión del color y la fotofobia puede ser un síntoma presente.

El trastorno se ha relacionado con mutaciones en el gen ABCA4, que codifica un transportador (ABCR), expresado específicamente en los conos y bastones de la retina, de unión a adenosina trifosfato (ATP). Los defectos en la función ABCR causan la acumulación de derivados trans-retinianos y citotóxicos en fotorreceptores y células epiteliales del pigmento retiniano (RPE), causando la muerte de las células RPE y la consiguiente pérdida de fotorreceptores<sup>8</sup>.

#### e. Síndrome de Usher

Es un síndrome caracterizado por la asociación de sordera neurosensorial (generalmente congénita) con retinosis pigmentaria y pérdida progresiva de la visión. La retinosis pigmentaria, generalmente diagnosticada con posterioridad a la sordera, se manifiesta con molestias visuales a bajas intensidades lumínicas, seguidas de una pérdida gradual de la visión que conduce a la ceguera total en unas pocas décadas, como se ha indicado anteriormente.

Dentro de esta enfermedad existen varios subtipos (dependiendo de cuál de los 10 posibles genes este afectado), siendo el 1 (y en concreto el 1B) el más interesante desde el punto de vista de la terapia génica. En este caso, la mutación se produce en el gen MYO7A, el cual codifica para una proteína miosina no convencional con acción motora llamada miosina VIIa, localizada en el epitelio pigmentario de la retina y/o en los fotorreceptores. La pérdida de la funcionalidad de esta proteína por mutaciones en el gen conlleva a que el paciente desarrolle de manera progresiva ceguera<sup>9</sup>.

#### f. Amaurosis congénita de Leber (ACL)

Es una enfermedad autosómica recesiva debida a la mutación en, al menos, 15 genes. Se trata de una distrofia retiniana caracterizada por una ceguera y una respuesta a la estimulación electrofisiológica (electrorretinograma de Ganzfeld (ERG)) por debajo del umbral, asociado con discapacidad visual grave en el primer año de vida.

Además, dependiendo de la causa genética, pueden presentarse respuesta pupilar lenta, movimientos oculares errantes, fotofobia, hipermetropía elevada, nistagmo, estrabismo convergente o queratocono. El signo óculo-digital de Franceschetti, que incluye el apretar, presionar y frotar los ojos es patognomónico. La ACL puede estar asociada a mutaciones en genes ligados a síndromes que se presentan con retraso del neurodesarrollo, discapacidad intelectual, comportamiento oculomotor tipo apraxia (dificultad del movimiento ocular) y disfunción renal<sup>10</sup>.

#### g. Glaucoma

El glaucoma es una neuropatía óptica multifactorial. Su afectación conduce a un aspecto característico de la papila óptica, el cual es consecuencia de la pérdida de la capa de células ganglionares en la retina, observándose una disminución en el grosor de la capa de fibras nerviosas. Esta patología causa defectos en el campo visual, el cual se va perdiendo de forma progresiva, además suele asociarse con un factor de riesgo modificable, como es la presión intraocular aumentada, aunque no es una regla, ya que existen tipos de glaucoma en los cuales no se presenta esta situación<sup>11,12</sup>.

El gen MYOC se ha asociado al glaucoma primario de ángulo abierto del adulto en un porcentaje pequeño de los casos, pero su implicación es mayor en el glaucoma juvenil. Este gen causa la producción de una proteína anómala que se acumula en las células situadas en los canales de drenaje del humor acuoso (líquido intraocular), causando un daño celular y por tanto un fallo en la eliminación del líquido que se acumula en el interior del ojo, ocasionando un aumento de la presión intraocular<sup>13</sup>.

El gen CYP1B1 se ha asociado al glaucoma congénito primario, ya que está implicado en los procesos de formación y desarrollo de las estructuras del ojo encargadas del drenaje del humor acuoso durante el período embrionario. La transmisión hereditaria del glaucoma congénito primario asociada a este gen es de tipo recesivo<sup>14</sup>.

#### h. Retinopatía diabética: proliferativa y no proliferativa

La retinopatía diabética (RD) es una complicación común de la diabetes mellitus. Se manifiesta por una microangiopatía o lesión de los pequeños vasos de la retina en presencia de niveles elevados de glucosa, siendo una de las causas principales de pérdida de visión. El mecanismo lesivo consiste en un daño oxidativo de las células del RPE y una lesión microvascular en forma de microaneurismas y oclusiones vasculares que conllevan a la hipoxia de la retina, con la consecuente formación de neovasos disfuncionales. Los primeros síntomas son déficit en la sensibilidad al contraste, disminución del campo visual y de la sensibilidad de visión de color, antes de desarrollar RD<sup>15</sup>.

## Clasificación de retinopatía diabética:

- Retinopatía diabética de base: se caracteriza por microaneurismas, hemorragias en mancha y exudados.
- Retinopatía diabética no proliferativa: se manifiesta por exudados algodonosos, alteraciones venosas, alteraciones microvasculares intrarretinianas, hemorragias retinianas profundas, y por último oclusión vascular.
- Retinopatía diabética proliferativa se caracteriza por la neovascularización y/o formación de tejido fibroso nuevo acompañada de la contracción de la superficie posterior del vítreo.
- Oftalmopatía diabética avanzada, puede conllevar a desprendimiento de retina, hemorragia persistente en el vítreo y glaucoma neovascular<sup>16</sup>.

### i. Edema macular diabético

Se puede definir como una acumulación del líquido a nivel tisular que provoca un engrosamiento de la retina, probablemente debido a la alteración de la barrera hematoretiniana externa. La prevalencia del edema macular diabético se encuentra alrededor del 0,7% de la población diabética y 7,9% si consideramos solamente la población diabética tipo II.

Entre las causas que conducen a la pérdida de la agudeza visual la retinopatía proliferativa se considera la más importante en la diabetes tipo I, y el edema macular en la diabetes tipo II<sup>16</sup>.

## 1.3 TERAPIA GÉNICA

La terapia génica se define como la transferencia de material genético en las células de un individuo con una finalidad terapéutica. Para llevar a cabo esta transferencia, se puede recurrir a la administración intravenosa o en un órgano determinado de vectores de liberación de genes, dándose así los fenómenos de transferencia de ADN, transferencia de ARN de interferencia (RNAi) o de algún oligonucleótido antisentido con el objeto de inhibir la expresión de un gen, o fenómenos de reparación de un gen defectuoso.

En función del tipo celular diana, existen dos modalidades de terapia génica:

- Terapia génica de células germinales: aquella dirigida a modificar la dotación genética de las células implicadas en la formación de óvulos y espermatozoides y, por tanto, transmisible a la descendencia. Este tipo de terapia génica sería la indicada para corregir de forma definitiva las enfermedades congénitas, una vez que la técnica sea eficaz y segura
- Terapia génica somática: aquella dirigida a modificar la dotación genética de células no germinales, es decir, de las células somáticas o constituyentes del organismo. Por ello, la modificación genética no puede transmitirse a la descendencia<sup>17</sup>.

Por otra parte, y en función de los métodos de transferencia génica, se clasifica en métodos físico-químicos y en vectores virales. Los métodos de transferencia génica físico-químicos o no virales fueron los primeros en ser desarrollados. En estos métodos el ADN exógeno está integrado en un plásmido, que es una molécula de ADN que puede ser mantenida de forma estable e independiente del genoma de la célula huésped. Por su parte, en la transferencia mediada por virus se sustituyen ciertos genes prescindibles del vector por aquellos genes que se desea introducir en las células diana. La región que ocupan estos genes se denomina región para inserción o "cassette"; su



tamaño (número de kilobases: kb) depende del tamaño del virus y de los genes que puedan ser sustituidos y, obviamente, constituye un factor limitante a la hora de insertar las secuencias génicas de interés. Actualmente, los virus constituyen la forma más eficaz de transferir genes terapéuticos al interior de las células diana, y son los vectores más utilizados en terapia génica. Los virus están constituidos por pequeños ácidos nucleicos (ADN o ARN) encapsulados en envolturas proteicas que los protegen y les permiten entrar en las células. Una vez en el interior de la célula, la información contenida en el ácido nucleico dirige la síntesis de proteínas virales, aprovechando el sistema sintetizador (ribosomas) y el aparato productor de energía (mitocondrias) de la célula huésped; de este modo se generan nuevos viriones. Los vectores virales se obtienen por eliminación de uno o más genes indispensables para la replicación del virus, y su sustitución por el gen terapéutico. De esta forma, el nuevo virus es defectivo, lo que significa que mantiene la capacidad de infectar las células pero es incapaz de multiplicarse en ellas. Es decir, un virus puede ser transformado estructuralmente mediante diversas técnicas, dando lugar a un vector recombinante relativamente seguro, siempre y cuando se sustituya los genes responsables de su replicación y virulencia por los genes terapéuticos, manteniendo su capacidad infectiva intacta<sup>18,19</sup>.

	VENTAJAS	INCONVENIENTES
VECTORES NO VIRALES (métodos físico-químicos)	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Son sencillos de preparar (producción de forma industrial).</li> <li>✓ No tienen limitaciones en cuanto al tamaño del ADN que pueden transferir.</li> <li>✓ Son poco tóxicos.</li> <li>✓ No son inmunogénicos.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>* Baja eficacia de transducción de las células diana.</li> <li>* Algunos de ellos sólo pueden utilizarse in vitro.</li> </ul>
VECTORES VIRALES	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Elevada eficacia de transfección, ya que son capaces de infectar una elevada proporción de las células diana, que en algunos casos llega a ser incluso del 100 %.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>* La seguridad constituye una importante preocupación, bien porque puede producirse una transferencia involuntaria del virus nativo patógeno, o bien porque pueda activarse un virus patógeno o un oncogén debido a la posibilidad de recombinación génica al insertarse un gen foráneo en el genoma del huésped.</li> <li>* Posible reacción inmunitaria del organismo, pudiendo eliminar el material genético a través de la muerte de las células genéticamente modificadas (para contrarrestar esta reacción inmune se intenta eliminar el mayor número posible de genes víricos del vector, con el fin de obtener una expresión más estable del gen terapéutico).</li> </ul>

## 2. OBJETIVOS

El objetivo de este trabajo se ha basado en la búsqueda de información de los diferentes vectores no virales en terapia génica para el tratamiento de patologías que afectan al segmento posterior del ojo, así como un breve estudio anatómico del globo ocular y sus patologías más características y un pequeño resumen de las vías de administración. Para ello, se ha llevado a cabo la descripción de cada sistema así como sus indicaciones y ventajas e inconvenientes. Para finalizar se han seleccionado los sistemas y las vías de administración más idóneas para este tipo de tratamiento.

## 3. METODOLOGÍA

Se ha realizado una revisión bibliográfica de los distintos sistemas de liberación (virales y no virales) empleados en el tratamiento de algunas enfermedades del segmento posterior del ojo. Se hace especial hincapié en los vectores no virales (nanosistemas). Se describen también las vías de administración que podrían emplearse para este tipo de terapia. La información se ha recogido a partir de la búsqueda y revisión de artículos en diversas bases de datos como Pubmed, Elsevier y SEFH y de manuales de Tecnología Farmacéutica, Oftalmología y Farmacología Ocular.

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1 VÍAS DE ADMINISTRACIÓN EN TERAPIA GÉNICA OCULAR

Al igual que hay diversos sistemas farmacéuticos para lograr la liberación del fármaco en la célula diana responsable de la patología ocular, las rutas de administración de estos medicamentos también son múltiples.

#### 4.1.1 Administración intraocular

La administración intraocular se puede dividir entre intracameral para el humor acuoso e intravítrea para el humor vítreo. Las inyecciones intravítreas han ganado considerable atención en las últimas dos décadas. Este método implica la inyección de la solución del fármaco directamente en el vítreo a través de la pars plana. A diferencia de otras rutas, la inyección intravítrea ofrece mayores concentraciones de fármaco en el vítreo y la retina, evitando efectos secundarios no deseados en otras estructuras por lo que es la ruta más eficiente para tratar trastornos en el parte posterior del ojo<sup>20, 21</sup>.

#### 4.1.2. Administración periocular

Periocular se refiere a la región que rodea el ojo, que incluye las rutas peribulbar, yuxtapalpebral posterior, retrobulbar, subtenon y subconjuntival<sup>22</sup>. Las soluciones farmacológicas se colocan muy cerca de la esclera, lo que produce altas concentraciones en la retina y el vítreo debido a que la esclera, hecha de tejido fibroso, ofrece menos resistencia al paso de fármacos. Los objetivos principales de la administración periocular son proporcionar una terapia más efectiva a través de la focalización directa en el sitio de acción y prolongar la actividad al proporcionar altos niveles extendidos de fármaco en el sitio objetivo. Las inyecciones subconjuntivales se pueden administrar debajo de la conjuntiva del globo ocular (epibulbar) o debajo de la conjuntiva que recubre el párpado (subpalpebral). Las inyecciones subconjuntivales están indicadas para el tratamiento de lesiones en la córnea, la esclerótica, la úvea anterior y el vítreo debido a que la inyección debajo de la conjuntiva permite que los medicamentos eviten el epitelio, una de las principales barreras que

limitan la entrada de medicamentos. Puede producirse una exposición sistémica significativa a los medicamentos debido a la rápida absorción de los medicamentos inyectados subconjuntivalmente en la circulación venosa ocular<sup>20, 23</sup>.

#### 4.1.3. Administración sistémica

Los medicamentos administrados por vía sistémica tienen un acceso deficiente al ojo debido a la barrera ocular sanguínea, que separa fisiológicamente el ojo del resto del cuerpo por componentes epiteliales y endoteliales, cuyas uniones estrechas limitan el transporte de los vasos sanguíneos al ojo. Sin embargo, la administración sistémica es una ruta terapéutica óptima cuando se tratan los segmentos posteriores del ojo (retina, coroides, nervio óptico y vítreo) porque es un método no invasivo. En un ojo normal las barreras sangre-ojo limitan la cantidad de penetración de drogas en el ojo. Si el ojo se inflama, la impermeabilidad normal de estas barreras se reduce considerablemente, lo que aumenta la concentración del fármaco en los tejidos objetivo. La terapia sistémica se puede usar para tratar afecciones de los párpados, la esclera, el tracto uveal (tanto anterior como posterior), vítreo, retina, nervio óptico y área retrobulbar si el medicamento tiene una gran ventana terapéutica<sup>20</sup>.

#### 4.1.4. Administración tópica

Los medicamentos administrados tópicamente en la superficie del ojo corresponden a más del 90% de la formulación ocular comercializada actualmente. Uno de los principales inconvenientes de esta ruta es la escasa biodisponibilidad de los medicamentos en formas de dosificación ocular, que se debe principalmente a factores de pérdida precorneal. Entre los factores responsables de la baja disponibilidad del fármaco, los más importantes son: (a) dinámica de lágrimas, (b) absorción no productiva, (c) tiempo de residencia transitoria en el fondo de saco e (d) impermeabilidad relativa de la membrana epitelial corneal. Por esta razón, solo una pequeña fracción del medicamento se absorbe realmente. Se intenta mejorar la biodisponibilidad ocular del fármaco extendiendo el tiempo de residencia del fármaco en el saco conjuntival utilizando agentes viscosizantes. La prolongación del tiempo de residencia precorneal con estos potenciadores de la viscosidad y geles tiene solo un valor limitado porque ambos casos son formulaciones líquidas y, por lo tanto, se eliminan por las rutas habituales en el dominio ocular<sup>20, 24</sup>.

## 4.2 TIPOS DE VECTORES EVALUADOS EN TERAPIA GÉNICA PARA EL TRATAMIENTO DE PATOLOGÍAS DEL SEGMENTO POSTERIOR DEL OJO

### 4.2.1 VECTORES VIRALES

En la búsqueda histórica de los vectores más adecuados se han utilizado diferentes especies de virus cada uno con características específicas. Entre los vectores virales más utilizados se encuentran los adenovirus, virus adenoasociados, herpes virus y retrovirus.

#### 4.2.1.1 *Retrovirus*

Los retrovirus contienen ARN de cadena sencilla como genoma viral. Durante el ciclo viral, el ARN se transcribe a la inversa para producir ADN de cadena doble (mediante la acción de la enzima transcriptasa reversa) que se integra al genoma de la célula hospedadora y se expresa en periodos prolongados. La mayor parte de los retrovirus pueden integrarse sólo en las células que se replican. Esta propiedad de los retrovirus restringe su uso como vector en la terapia génica<sup>25</sup>. La familia Retroviridae está compuesta por las subfamilias Spumaviridae, Lentiviridae y Oncoviridae. Los

derivados de oncovirus murinos tipo C o  $\gamma$ -retrovirus han sido los más utilizados pero, recientemente, se han desarrollado vectores retrovirales basados en lentivirus, familia a la cual pertenece el VIH, uno de los virus mejor estudiados. Algunas de las proteínas virales tienen señales de localización nuclear y facilitan la entrada del virus por los poros nucleares. Por eso, al contrario que los oncovirus, presentan la ventaja de infectar células que no están en división y parecen evitar algunos de los problemas de seguridad de estos<sup>26</sup>.

#### 4.2.1.2 Adenovirus

Los adenovirus son virus ADN de doble cadena (dsDNA) sin envuelta, de nucleocápside icosaédrica, de la que parten filamentos proteicos para el reconocimiento de la célula diana. Son responsables de las principales enfermedades de vías respiratorias altas, con muy buen tropismo por células humanas.

Algunas de las ventajas es que infectan todo tipo de células, tanto si se dividen como si no y son estables y fáciles de purificar y concentrar. Dentro de los inconvenientes tienen toxicidad a dosis altas, generan una fuerte respuesta inmune, no son integrativos y la duración de la expresión es limitada, sobre todo en células en división. Hoy en día son los más utilizados in vivo, para ocasiones en las que no se requiere una expresión duradera del gen<sup>27</sup>.

#### 4.2.1.3 Virus adenoasociados (VAA)

Los virus adenoasociados son pequeños, simples, no autónomos y contienen ADN lineal de cadena sencilla. Estos virus requieren de la coinfección con adenovirus o herpesvirus para replicarse. Los vectores base de los virus adenoasociados son simples y contienen sólo las secuencias víricas de repeticiones terminales. La producción de los vectores de estos virus es amplia y lleva consigo la introducción en la célula hospedadora, no sólo del propio vector, sino también de un plásmido que codifica el rep y el cap (genes) para suministrar las funciones del virus ayudante. Las ventajas características son buena infectividad, transducen células en división y no mitóticas, integración en el genoma de la célula huésped, muy baja toxicidad y ausencia de respuesta inmune celular. Así como en los inconvenientes destaca que requieren de las funciones de un adenovirus para su obtención, y la especificidad de la integración en un locus concreto se pierde en los AAV recombinantes, y en consecuencia, la integración se realiza al azar<sup>28</sup>.

#### 4.2.1.4 Herpes virus

La familia Herpesviridae incluye al herpes simple, el Epstein-Barr, varicela zóster y el citomegalovirus; compuestos de ADN bicatenario. Las ventajas de los vectores génicos del herpesvirus son su capacidad de llevar grandes secuencias insertadas de ADN extraño, y su aptitud para ocasionar infecciones latentes de larga duración, en las cuales el genoma del virus es un episoma con efectos no aparentes en la célula hospedadora. Como los retrovirus, el grupo de herpes virus (herpesvirus- $\gamma$ ) tiene el potencial de distribuir genes a células pluripotentes y a su progenie diferenciada. La desventaja para el uso de estos virus en la terapia génica, es que los herpesvirus- $\gamma$  se relacionan con efectos linfoproliferativos y en algunos casos malignidad. En contraste con los gamma-herpes virus, el virus del herpes simple y otros alfa-herpesvirus es que no pueden mantener una infección latente en células en división. Algunos problemas de estos vectores son la dificultad de mantener la expresión prolongada del gen terapéutico y la eficiencia de la infección es más o menos baja cuando se le compara con otros sistemas virales<sup>29, 30</sup>.

Tabla 3. Ventajas e inconvenientes de los vectores virales		
Vector	Ventajas	Inconvenientes
Retrovirus	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Integración estable</li> <li>- Fácil manejo</li> <li>- No provocan respuesta inmune</li> <li>- Transducción eficiente</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Bajo título</li> <li>- Posible mutación insercional</li> <li>- Extinción del transgén <i>in vivo</i></li> <li>- Requieren proliferación celular</li> </ul>
Adenovirus	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Células en reposo o replicación</li> <li>- Episomales</li> <li>- Estables <i>in vivo</i></li> <li>- Títulos altos</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Respuesta inmune e inflamatoria</li> <li>- Direccionalidad difícil</li> <li>- Difícil manejo</li> </ul>
Adenoasociados	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Células en reposo o replicación</li> <li>- Posible integración específica</li> <li>- Poco inmunogénicos</li> <li>- Títulos altos</li> <li>- No son patógenos en humanos</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Poca longitud del transgén</li> <li>- Difíciles de producir en gran cantidad</li> <li>- No parecen transducir a todo tipo de células <i>in vivo</i></li> <li>- Posible mutación insercional</li> </ul>
Herpes virus	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Células en reposo</li> <li>- Episomales</li> <li>- Adecuados para el sistema nervioso</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Patogenicidad</li> <li>- Difícil manejo</li> </ul>

Figura 3. Ventajas e inconvenientes de los vectores virales. Terapia génica. Vectores de expresión | Offarm [Internet]. Disponible en: <https://www.elsevier.es/en-revista-offarm-4-articulo-terapia-genica-vectores-expresion-13051502>

#### 4.2.2 VECTORES NO VIRALES (NANOSISTEMAS)

La eficacia de estas nuevas "medicinas génicas" depende de dos niveles de actuación: el sistema de introducción de los genes (el vector propiamente dicho) y el sistema de regulación de su expresión (el soporte). Los vectores no virales presentan, en general, una eficacia inferior al de sus oponentes, sin embargo, en cuanto a sus ventajas destacan su facilidad de manipulación, mayor estabilidad, bioseguridad, gran capacidad transportadora, menor inmunogenicidad y especificidad celular, en algunos casos. Los tipos de vectores son muy variados, pero pueden agruparse en categorías, que veremos a continuación.

##### 4.2.2.1 Liposomas

Los liposomas son vesículas biocompatibles y biodegradables compuestas de moléculas anfifílicas, como los fosfolípidos y el colesterol, similares a los presentes en las membranas biológicas<sup>31</sup>. Tienen un diámetro de 25 - 10,000 nm y sus propiedades como el tamaño, la carga superficial, la estabilidad y la farmacocinética dependen de su método de preparación y composición. Según su tamaño y número de bicapas, se pueden dividir en pequeñas vesículas unilamelares (SUV), grandes vesículas unilamelares (LUV), vesículas unilamelares gigantes (GUV) y vesículas multilamelares (MLV). Las cavidades dentro de los liposomas, que están delimitadas por las cabezas polares de los fosfolípidos, pueden transportar fármacos hidrófilos, mientras que los fármacos lipofílicos pueden solubilizarse dentro de la bicapa entre las colas hidrófobas.

No solo ayudan a proporcionar una acción prolongada y controlada a la superficie corneal, sino que también permiten el suministro ocular controlado al prevenir el metabolismo del fármaco encapsulado por las enzimas presentes en la superficie epitelial corneal / lagrimal. Los liposomas también pueden proteger el medicamento de la degradación enzimática y pueden unirse al epitelio aumentando el tiempo de residencia del medicamento.

Se emplean varios biomateriales, principalmente de naturaleza lipídica, en la fabricación de los liposomas y se pueden dividir en tres grupos según su carga a pH fisiológico: lípidos negativos, positivos y neutros. El biomaterial más común usado en la composición de liposomas es lecitina / fosfatidilcolina. Además el colesterol es otro lípido que generalmente se emplea en formulaciones de liposomas para rutas oculares<sup>20</sup>.

Nicolás Cuenca Navarro<sup>32</sup> en 2004 defendió el uso de inmunoliposomas pegilados como alternativa para el tratamiento de retinosis pigmentaria.

#### 4.2.2.2 Nanoemulsiones

Las nanoemulsiones (NE) son un grupo de dispersiones heterogéneas de dos líquidos inmiscibles. Su estabilidad física puede mejorarse seleccionando emulsionantes adecuados que sean capaces de reducir la tensión interfacial o aumentar la repulsión de las gotitas. Dependiendo de las concentraciones de aceite / agua / emulsionante y la eficiencia del equipo de emulsión utilizado para obtener un tamaño de gota reducido, la emulsión final puede estar en forma de aceite en agua (o / w), agua en aceite (w / o) o, incluso, emulsiones múltiples. Básicamente, hay dos tipos de compuestos en una formulación de NE que son fundamentales para definir las propiedades del sistema disperso: el aceite (aceite de soja) y el surfactante (lecitina).

La biodegradabilidad natural, el tamaño de las gotas nanométricas, la esterilización, la solubilización sustancial del fármaco (principalmente para fármacos lipofílicos) y la biodisponibilidad ocular mejorada hacen que los NE sean sistemas prometedores de administración ocular<sup>20,33</sup>.

En concreto, la formulación de clorhidrato de dorzolamida en forma de nanoemulsión es uno de los ejemplos que ofrece un tratamiento más intensivo del glaucoma, una disminución en el número de aplicaciones por día, y un mejor cumplimiento del paciente en comparación con las gotas oculares convencionales. Así se describe en el artículo “Nanoemulsion as a Potential Ophthalmic Delivery System for Dorzolamide Hydrochloride” escrito por Hussein O. Ammar, H. A. Salama, M. Ghorab, y A. A. Mahmoud<sup>34</sup> publicado en junio del 2009.

#### 4.2.2.3 Nanopartículas

Las nanopartículas (NP) son partículas que varían en tamaño de 10 a 1000 nm y, dependiendo del uso, pueden incluir o no una molécula activa dentro de su estructura<sup>35</sup>. Esta molécula se puede unir a la matriz de la nanopartícula o se puede disolver, encapsular y / o atrapar, dando lugar a la diferente clasificación que incluye nanoesferas o nanocápsulas. El término nanoesfera (NS) se refiere a una estructura matricial y el término nanocápsula (NC) se aplica a un sistema con un núcleo de aceite y una cubierta polimérica. Para aplicaciones oftálmicas, estos nanosistemas tienen la ventaja de ser fáciles de administrar en forma líquida, mientras que para la aplicación tópica, son bien aceptados por los pacientes debido a sus requisitos de dosificación menos frecuentes debido a la mayor duración de la retención en el área precorneal<sup>20</sup>.

En junio de 2017, Anna Salas Torras<sup>36</sup> realizó un estudio sobre dos nanopartículas poliméricas como sistemas de transferencia no viral anti-angiogénica en la retina. Las nanopartículas proteicas R9-GFP-H6 y las nanopartículas poliméricas de quitosano O15, ambas con utilidad en la retinopatía diabética y en la DMAE.

##### 4.2.2.3.1 Polímeros sintéticos

- Poli (alquilcianoacrilatos)

Algunas de las ventajas de los poli (alquilcianoacrilato) (PACA), como la biocompatibilidad y la biodegradabilidad, el simple proceso de preparación de las nanopartículas y, en particular, su capacidad para atrapar un número significativo de bioactivos, específicamente proteínas y péptidos, han despertado un gran interés en el uso de este tipo de polímeros para el desarrollo de sistemas de administración ocular de fármacos. Por estas razones, el poli (butilcianoacrilato) (PBCA), un tipo de PACA, fue uno de los primeros polímeros que se utilizó para desarrollar un

sistema de administración de fármacos nanoestructurados para el ojo<sup>20</sup>. Sin embargo algunos autores han observado que los PACA pueden dañar el epitelio corneal al interrumpir las membranas celulares<sup>35</sup>. Además el PBCA presenta otros inconvenientes al encapsular fármacos muy hidrofílicos, debido a que es un polímero hidrófobo (pese a esta característica se ha conseguido un efecto farmacológico entorno al 20-30%).

- Polímeros derivados del ácido metacrílico (Polimetacrilatos)

Copolímero completamente polimerizado de ácido metacrílico y un éster acrílico o metacrílico. En la monografía se definen tres tipos de copolímeros: Tipo A, Tipo B y Tipo C. Varían en su contenido de ácido metacrílico y viscosidad en solución. Tipo A (Eudragit RL) y Tipo B (Eudragit RS), también conocidos como copolímeros de metacrilato de amonio, consisten en copolímeros completamente polimerizados de ésteres de ácido acrílico y metacrílico con un bajo contenido de grupos de amonio cuaternario. Los polimetacrilatos pueden modificar varias características de los medicamentos, incluida su estabilidad, los perfiles de liberación y sus perfiles farmacocinéticos y farmacodinámicos.

- Poliésteres alifáticos

Los poliésteres alifáticos son homopolímeros o copolímeros sintéticos de ácido láctico (PLA), ácido glicólico (PGA) y ácido  $\epsilon$ -hidroxicaproico (PECL). Son biodegradables y sufren degradación hidrolítica y biológica a través de la escisión de los enlaces éster o se metabolizan a través del ciclo del ácido cítrico en productos no tóxicos. La velocidad de biodegradación y las características de la liberación del fármaco de un sistema de suministro de fármacos hecho de poliésteres alifáticos se pueden controlar cambiando las propiedades fisicoquímicas de los polímeros, incluyendo la cristalinidad, la hidrofobicidad, la estereoquímica de monómeros, la relación de copolímeros y el peso molecular del polímero. Estas propiedades adecuadas representan algunas de las razones por las cuales los poliésteres alifáticos fueron uno de los primeros polímeros en ser investigados para sistemas de administración de fármacos en nanopartículas para administración ocular.

#### 4.2.2.3.2 *Polímeros naturales*

- Quitosano

El quitosano (CS) es uno de los polímeros naturales más estudiados para la preparación de nanopartículas. El quitosano ( $\alpha$  [1  $\rightarrow$  4] 2-amino 2-desoxi  $\beta$ D glucano) es un polímero natural sintetizado por la desacetilación alcalina de la quitina, que es el segundo polisacárido más abundante en la naturaleza, después de la celulosa. Este polímero se puede encontrar en los exoesqueletos de crustáceos, insectos y algunos hongos. Exhibe varias propiedades biológicas favorables que lo convierten en un polímero interesante para su uso en formulaciones farmacéuticas. Es un polímero mucoadhesivo y biodegradable que posee propiedades para mejorar la penetración. El uso de CS en la terapia ocular comenzó con su uso como agente de recubrimiento de nanoestructuras, como nanocápsulas o nanoemulsiones. Las ventajas de un recubrimiento CS no solo se deben a su carga eléctrica positiva que puede interactuar con la superficie celular, sino también a la naturaleza del CS mismo. De esta manera se comprobó que las nanocápsulas recubiertas con CS aumentan su biodisponibilidad frente a las que no lo están. Su uso en terapéutica ocular aún enfrenta los inconvenientes efectos tóxicos que ocurren cuando se requiere una administración intraocular. Se demostró que las CS-NP inducen turbidez vítrea severa, infiltración celular y opacidades membranosas y a menudo se asociaron con inflamación. Este

inconveniente también limita su uso para otras vías de administración ocular, como la administración subretiniana.

- Hialuronano

El hialuronano (HA) es un glicosaminoglicano lineal no sulfatado no epimerizado que existe in vivo como un polianión de ácido hialurónico y está compuesto por unidades repetidas de disacárido de ácido D-glucurónico y N-acetilD-glucosamina. Es un componente importante de la matriz extracelular (ECM) del ojo y de muchos otros tejidos y órganos, y posee propiedades mucoadhesivas y bajo comportamiento tóxico. Sin embargo, la propiedad más atractiva de HA para los sistemas de administración de fármacos oculares es su capacidad de interactuar fuertemente con varios receptores, por ejemplo, el receptor de ácido hialurónico para la endocitosis (HARE) y el receptor CD44, que son expresado en el epitelio ocular. Inicialmente, en los sistemas de suministro de fármacos en nanopartículas, el HA, como se describió en el caso de CS, se usó como agente de recubrimiento, y luego se incluyó en sistemas híbridos hasta el desarrollo de nanosistemas basados solo en HA.

- Gelatina

La gelatina es un polímero natural que se deriva del colágeno y se usa comúnmente para aplicaciones farmacéuticas y médicas debido a su biodegradabilidad y biocompatibilidad en entornos fisiológicos. Una característica interesante de la gelatina es que su punto isoeléctrico puede modificarse durante el proceso de fabricación para producir gelatina ácida cargada negativamente o una gelatina básica cargada positivamente a pH fisiológico. La gelatina comercial generalmente se obtiene de una fuente animal, por lo que los problemas de seguridad, incluida la posible contaminación e inmunogenicidad, pueden ser un problema importante. Por esta razón, la gelatina humana recombinante puede ser una alternativa útil porque tiene las mismas propiedades que la gelatina comercial pero su pureza es mayor.

- Otros polímeros

La interacción con los receptores HARE y CD44 no es exclusiva de HA. Se ha informado que el sulfato de condroitina y el sulfato de dextrano comparten la misma capacidad pero a diferentes intensidades, y esta propiedad puede ser muy útil en la internalización de NP. El sulfato de condroitina es un glicosaminoglicano ampliamente distribuido compuesto por una cadena de unidades alternas de N-acetilgalactosamina y ácido glucurónico, que desempeña un papel importante en el tejido conectivo y el metabolismo del ojo y se ha propuesto como agente biomimético para la lincación de fármacos racionales. El sulfato de dextrano es un glucano altamente sulfatado de la anhidroglucosa compuesto por aproximadamente el 95% de enlaces alfa-D con los enlaces restantes para la ramificación del polímero.

Las NP basadas en glucomanano pueden tener una aplicación especial en el tratamiento de las células del epitelio pigmentario de la retina (RPE). El glucomanano es un polisacárido lineal sin carga derivado de la familia manano y es un polímero  $\beta$ 1, 4 compuesto de residuos de D-manosa y D-glucosa. Tiene la capacidad de interactuar con receptores específicos, y esto podría ser interesante en el caso de los receptores de manosa encontrados en las células RPE que están relacionadas con el proceso de internalización celular<sup>20</sup>.



#### 4.2.2.4 Nanopartículas sólidas lipídicas (SLN)

Las nanopartículas lipídicas sólidas (SLN) son nanoestructuras hechas de un lípido que es sólido a temperatura ambiente y corporal. A pesar de ser un sistema de liberación interesante, los SLN enfrentan muchos problemas, como la baja capacidad de carga y la posible expulsión del medicamento durante el almacenamiento. Otra desventaja es que los SLN pueden incorporar eficientemente solo moléculas hidrófobas, pero incluso esta molécula puede ser expulsada de los SLN. Esto se puede superar en parte mediante la incorporación de una mezcla de lípidos, generalmente líquida, para crear una matriz de lípidos lo más desorganizada posible. Estos sistemas se denominan portadores de lípidos nanoestructurados (NLC). Para la terapia ocular, las ventajas más importantes de usar SLN son la liberación controlada y sostenida del medicamento debido al aumento del tiempo de residencia (que puede extenderse usando SLN con carga positiva). Estas propiedades se ven gravemente afectadas por el lípido sólido y el tensioactivo seleccionado<sup>20</sup>.

E. Sánchez-López, M. Espina, S. Doktorovova , E.B. Souto , M.L. García en un artículo publicado en el 2016 describieron el uso de nanopartículas lipídicas catiónicas como portadoras de medicamentos focalizados en el tratamiento de varias enfermedades, como ojo seco, degeneración macular relacionada con la edad (DMAE), glaucoma, retinopatía diabética y edema macular<sup>37</sup>.

#### 4.2.2.5 Dendrímeros

Los dendrímeros consisten en una molécula central, que actúa como la raíz de la cual se originan varios brazos altamente ramificados, en forma de árbol, de forma ordenada y simétrica. Su arquitectura molecular única les otorga algunas propiedades distinguidas, como un tamaño definido, una polidispersión relativamente baja y la posibilidad de funcionalizarse fácilmente. Incluso con la capacidad de asociar medicamentos, los dendrímeros generalmente se emplean como vehículos de terapia génica no virales. Aún es demasiado pronto para predecir el futuro de los dendrímeros como nanomedicinas oculares debido a la falta de estudios, pero si estos resultados se reprodujeran en otros tejidos, serían un vehículo prometedor para una terapia génica ocular efectiva y no tóxica<sup>20, 33</sup>.

Robert J. Marano , Norbert Wimmerb , Philip S. Kearnsb , Bradley G. Thomasb , Istvan Tothb , Meliha Brankova , P. Elizabeth Rakoczy<sup>38</sup> en junio del 2004 describieron el uso de este tipo de nanosistemas para combatir la neovascularización, mediante dendrímeros lipídicos asociados a un oligonucleótido capaz de reducir la transcripción del VEGF, en pacientes con retinopatía diabética o con degeneración macular asociada a la edad.

### 5. PRINCIPALES TRABAJOS PUBLICADOS HASTA LA FECHA

<b>Autor/Autores</b>	<b>Revista/Año</b>	<b>Nanosistema</b>	<b>Gen afectado</b>	<b>Patología tratada</b>	<b>Estudios</b>
Sisi Lai, Yanyan Wei, Quanwu Wu, Kang Zhou, Tuo Liu , Yingfeng Zhang , Ning Jiang, Wen Xiao, Junjie Chen , Qihong Liu y Yang Yu <sup>39</sup>	Journal of Nanobiotechnology (2019)	Liposoma	VEGF	DMAE	In vitro e in vivo
Nicolás Cuenca Navarro <sup>32</sup> .	Departamento de Biotecnología Universidad de Alicante (2004)	Inmunoliposomas pegilados	RPE65	Retinosis pigmentaria	In vivo

Tal Hagigit , Muhammad Abdulrazik , Faty Valamanesh , Francine Behar-Cohen, Simon Benita <sup>40</sup>	Journal of Controlled Release (2011)	Nanoemulsión catiónica de oligonucleótidos antisentido (ODN17)	VEGF-R2	DMAE húmeda	In vivo
Hussein O. Ammar, H. A. Salama, M. Ghorab y A. A. Mahmoud <sup>34</sup>	AAPS PharmSciTech (2009)	Nanoemulsión	Actúa disminuyendo la PIO	Glaucoma	In vivo e in vitro
Anna Salas Torras <sup>36</sup>	Escuela de ingeniería. Departamento de ingeniería química, biológica y ambiental. Doctorado en biotecnología. Tesis doctoral (2017)	Nanopartículas	VEGF	Retinopatía diabética y DMAE	In vitro e in vivo
José Martín Nieto <sup>41</sup>	Terapia génica de la enfermedad de Stargard (2015)	Nanopartículas compactadas de ADN basadas en poli-lisina, denominadas CK30	Gen ABCA4	Enfermedad de Stargardt	In vivo
Jayamanti Pandit, Yasmin Sultana y Mohd Aqil <sup>42</sup>	Journal Artificial Cells, Nanomedicine and Biotechnology (2016)	Polímero natural de quitosano	VEGF	DMAE, retinopatía diabética, cataratas, uveítis, queratitis y glaucoma.	In vitro
Sheetu Wadhwa, Rishi Paliwal, Shivani R. Paliwal y S. P. Vyas <sup>43</sup>	Journal of Drug Targeting (2009)	Polímero de hialurano	Disminución de la PIO	Glaucoma	In vitro
E. Sánchez-López, M. Espina, S. Doktorovova , E.B. Souto , M.L. García <sup>37</sup>	European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics (2016)	Nanopartículas lipídicas catiónicas	ARPE-19	Ojo seco, DMAE, glaucoma, retinopatía diabética y edema macular.	In vitro e in vivo
Ali Mohammed Alhalafi <sup>44</sup>	Oman Journal of Ophthalmology Applications of polymers in intraocular drug delivery systems (2017)	Dendrímeros de aminoácidos lipofílicos (oligonucleótidos [ODN])	Factor de crecimiento endotelial antivascolar (VEGF) -ODN.	Neovascularización coroidal (CNV)	In vivo
Robert J. Marano , Norbert Wimmerb, Philip S. Kearnsb , Bradley G. Thomasb , Istvan Tothb , Meliha Brankova , P. Elizabeth Rakoczy <sup>38</sup>	Experimental Eye Research (2004)	Dendrímeros lipídicos	VEGF	Retinopatía diabética y DMAE	In vitro

## 6. CONCLUSIONES

Los nanosistemas de administración intraocular, en concreto, la vía intravítrea resultan de gran interés en terapia génica no viral, específicamente, en el tratamiento de patologías asociadas al segmento posterior del globo ocular. Esta vía de administración es capaz de proporcionar una terapia más efectiva a través de la focalización directa en el sitio de acción evitando efectos secundarios no deseados en otras estructuras y prolongar la actividad al liberar altos niveles de fármaco en el sitio objetivo.

## 7. BIBLIOGRAFÍA

1. Loayza Villar, F. Atlas de anatomía ocular. Lima: Ministerio de Salud; 2004.
2. Maldonado López, M; Pastor Jimeno, J. Guiones de oftalmología. 2ª Edición. Madrid: McGraw-Hill; 2012.
3. Daiger SP, Bowne SJ, Sullivan LS. Perspective on genes and mutations causing retinitis pigmentosa. Vol. 125, Archives of Ophthalmology. American Medical Association; 2007. p. 151–8.
4. Ayuso D, López Martínez D, Millán Salvador D, Peraita D, Riveiro Álvarez D, Trujillo Tiebas D. Orphanet: Coroideremia [Internet]. Orpha.net. 2011. Disponible en: [https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC\\_Exp.php?lng=ES&Expert=180](https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?lng=ES&Expert=180)
5. García García MÁ, Salinas Martínez EM. Degeneración macular asociada a la edad (DMAE).: Guía clínica optométrica, a partir de estudios basados en la evidencia. Gac Optom y óptica oftálmica, N° 487, 2013, págs 24-30. 2013;(487):24–30.
6. Barquet. L. Arias. Epidemiología, etiopatogenia y factores de riesgo de la DMAE. VOL. LXIV.La Medicina Hoy; 2003.
7. Kimura K, Isashiki Y, Sonoda S, Kakiuchi-Matsumoto T, Ohba N. Genetic association of manganese superoxide dismutase with exudative age-related macular degeneration. Am J Ophthalmol. 2000 Dec 1;130(6):769–73.
8. Bax D, Hoyng P, Klevering P. Orphanet: Enfermedad de Stargardt [Internet]. Orpha.net. 2014 Disponible en: [https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease\\_Search.php?lng=ES&data\\_id=158&Disease\\_Disease\\_Search\\_diseaseGroup=stargardt&Disease\\_Disease\\_Search\\_diseaseType=Pat&Enfermedad\(es\)/grupo%20de%20enfermedades=Enfermedad-de-Stargardt&title=Enfermedad%20de%20Stargardt&search=Disease\\_Search\\_Simple](https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=ES&data_id=158&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=stargardt&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Enfermedad(es)/grupo%20de%20enfermedades=Enfermedad-de-Stargardt&title=Enfermedad%20de%20Stargardt&search=Disease_Search_Simple)
9. Blanchet D, Hamel P. Orphanet: Síndrome de Usher [Internet]. Orpha.net. 2009. Disponible en: [https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease\\_Search.php?lng=ES&data\\_id=662&Disease\\_Disease\\_Search\\_diseaseGroup=usher&Disease\\_Disease\\_Search\\_diseaseType=Pat&Enfermedad\(es\)/grupo%20de%20enfermedades=Síndrome-de-Usher&title=Síndrome%20de%20Usher&search=Disease\\_Search\\_Simple](https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=ES&data_id=662&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=usher&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Enfermedad(es)/grupo%20de%20enfermedades=Síndrome-de-Usher&title=Síndrome%20de%20Usher&search=Disease_Search_Simple)
10. Lorenz P, Preising D. Orphanet: Amaurosis congénita de Leber [Internet]. Orpha.net. 2015. Disponible en: [https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease\\_Search.php?lng=ES&data\\_id=3243&Disease\\_Disease\\_Search\\_diseaseGroup=leber&Disease\\_Disease\\_Search\\_diseaseType=Pat&Enfermedad\(es\)/grupo%20de%20enfermedades=Amaurosis-congenita-de-Leber&title=Amaurosis%20congénita%20de%20Leber&search=Disease\\_Search\\_Simple](https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=ES&data_id=3243&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=leber&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Enfermedad(es)/grupo%20de%20enfermedades=Amaurosis-congenita-de-Leber&title=Amaurosis%20congénita%20de%20Leber&search=Disease_Search_Simple)
11. Boyd K. ¿Cómo se diagnostica el glaucoma? [Internet]. American Academy of Ophthalmology. 2019. Disponible en: <https://www.aaopt.org/salud-ocular/enfermedades/glaucoma-agnostico>
12. Jonas JB, Aung T, Bourne RR, Bron AM, Ritch R, Panda-Jonas S. Glaucoma [Internet]. Vol. 390, The Lancet. Lancet Publishing Group; 2017. p. 2183–93. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673617314691>
13. Alward WLM, Kwon YH, Khanna CL, Johnson AT, Hayreh SS, Zimmerman MB, et al. Variations in the myocilin gene in patients with open-angle glaucoma. Arch Ophthalmol. 2002 Sep 1;120(9):1189–97
14. Vincent AL, Billingsley G, Buys Y, Levin A V., Priston M, Trope G, et al. Digenic inheritance of early-onset glaucoma: CYP1B1, a potential modifier gene. Am J Hum Genet. 2002 Feb 1;70(2):448–60.
15. Li X, Zhao H, Wang Q, Liang H, Jiang X. Fucoidan protects ARPE-19 cells from oxidative stress via normalization of reactive oxygen species generation through the Ca<sup>2+</sup>-dependent ERK signaling pathway. Mol Med Rep. 2015 May 1;11(5):3746–52.
16. Pan S. idUS - Las retinopatías y la degeneración macular asociada a la edad [Internet]. Disponible en: <https://idus.us.es/handle/11441/82679;jsessionid=8553445301A9C3A015B1C900A3A18AEC>

17. Ronchera-Oms, C. L., González, J. M. Terapia génica. *Farmacia hospitalaria*; 2013.
18. Pérez-López J. Terapia génica en el tratamiento de los errores congénitos del metabolismo. Vol. 142, *Medicina Clínica*. Ediciones Doyma, S.L.; 2014. p. 549–53.
19. Bleijs R. Gene Therapy Net. [Online]. 2015 Disponible en: <http://www.genetherapynet.com/>
20. Zorzi GK. Desarrollo de un nuevo tratamiento para el ojo seco basado en la terapia génica con sistemas nanoparticulares. Tesis Doctoral
21. Tsai C-H, Wang P-Y, Lin I-C, Huang H, Liu G-S, Tseng C-L. Ocular Drug Delivery: Role of Degradable Polymeric Nanocarriers for Ophthalmic Application. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2018 Sep 19; 19(9):2830. Disponible en: <http://www.mdpi.com/1422-0067/19/9/2830>
22. Gaudana R, Jwala J, Boddu SHS, Mitra AK. Recent perspectives in ocular drug delivery. Vol. 26, *Pharmaceutical Research*. Springer; 2009. p. 1197–216.
23. Herrero Vanrell R. Cesión controlada de fármacos en el segmento posterior: Nuevas tendencias [Internet]. Disponible en: [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0365-66912007000100002](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0365-66912007000100002)
24. García López ML. Nuevas estrategias en administración ocular de fármacos [Internet]. Barcelona: 2002. Disponible en: <http://rafc.cat/wp-content/uploads/2011/07/Discurs-a.c.-Dra.-M.-Luisa-Garc%C3%ADa.pdf>
25. Miller AD, Miller DG, Victor Garcia J, Lynch CM. Use of Retroviral Vectors for Gene Transfer and Expression. *Methods Enzymol*. 1993 Jan 1;217(C):581–99.
26. Danos O, Mulligan RC. Safe and efficient generation of recombinant retroviruses with amphotropic and ecotropic host ranges. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1988 Sep 1; 85(17):6460–4.
27. Berkner KL. Expression of heterologous sequences in adenoviral vectors. Vol. 158, *Current Topics in Microbiology and Immunology*. Springer, Berlin, Heidelberg; 1992. p. 39–66.
28. Büeler H. Adeno-Associated Viral Vectors for Gene Transfer and Gene Therapy in: *Biological Chemistry Volume 380 Issue 6 (1999)* [Internet]. Disponible en: [https://www.degruyter.com/view/journals/bchm/380/6/article-p613\\_4.xml](https://www.degruyter.com/view/journals/bchm/380/6/article-p613_4.xml)
29. Coronas Serna JM. Vectores Virales en Terapia Génica [Internet]. 2015. Available from: <http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Memoria/JULIA MARIA CORONAS SERNA.pdf>
30. SETGyC. Sociedad Española de Terapia Génica y Celular. [Online]; 2015 Disponible en: <http://www.setgyc.es/>
31. Fialho SL, Cunha A da S. Sistemas de transporte de drogas para o segmento posterior do olho: Bases fundamentais e aplicações. *Arq Bras Oftalmol*. 2007 Jan;70(1):173–9.
32. Cuenca N. Inmunoliposomas y células madre: terapia de enfermedades degenerativas retinianas [Internet]. 2004. Disponible en: [http://rua.ua.es/dspace/bitstream/10045/16759/1/vision\\_24.pdf](http://rua.ua.es/dspace/bitstream/10045/16759/1/vision_24.pdf)
33. Herrero-Vanrell R, Vicario De La Torre M, Andrés-Guerrero V, Barbosa-Alfaro D, Molina-Martínez IT, Bravo-Osuna I. Nano and microtechnologies for ophthalmic administration, an overview. Vol. 23, *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. Editions de Sante; 2013. p. 75–102.
34. Ammar HO, Salama HA, Ghorab M, Mahmoud AA. Nanoemulsion as a potential ophthalmic delivery system for dorzolamide hydrochloride. *AAPS PharmSciTech*. 2009 Sep 18; 10(3):808–19.
35. Kaur IP, Kanwar M. Ocular preparations: The formulation approach. Vol. 28, *Drug Development and Industrial Pharmacy*. Taylor & Francis; 2002. p. 473–93.
36. Salas Torras A, García Arumí J, Schwartz Navarro S, Abasolo I, Universitat Autònoma de Barcelona. Departament d'Enginyeria Química B i A. Desarrollo de modelos celulares y animales para el estudio de terapia génica no viral anti-angiogénica en retina. 2017.
37. Sánchez-López E, Espina M, Doktorovova S, Souto EB, García ML. Lipid nanoparticles (SLN, NLC): Overcoming the anatomical and physiological barriers of the eye – Part II - Ocular drug-loaded lipid nanoparticles. *Eur J Pharm Biopharm*. 2017 Jan 1; 110:58–69.

38. Marano RJ, Wimmer N, Kearns PS, Thomas BG, Toth I, Brankov M, et al. Inhibition of in vitro VEGF expression and choroidal neovascularization by synthetic dendrimer peptide mediated delivery of a sense oligonucleotide. *Exp Eye Res.* 2004 Oct 1; 79(4):525–35.
39. Lai S, Wei Y, Wu Q, Zhou K, Liu T, Zhang Y, et al. Liposomes for effective drug delivery to the ocular posterior chamber. *J Nanobiotechnology.* 2019 May 13;17(1):1–12.
40. Hagigit T, Abdulrazik M, Valamanesh F, Behar-Cohen F, Benita S. Ocular antisense oligonucleotide delivery by cationic nanoemulsion for improved treatment of ocular neovascularization: An in-vivo study in rats and mice. *J Control Release.* 2012 Jun 10; 160(2):225–31.
41. Nieto JM, Científico A. Terapia génica de la enfermedad de Stargard.
42. Pandit J, Sultana Y, Aqil M. Chitosan-coated PLGA nanoparticles of bevacizumab as novel drug delivery to target retina: optimization, characterization, and in vitro toxicity evaluation. *Artif Cells, Nanomedicine, Biotechnol* [Internet]. 2017 Oct 3 ;45(7):1397–407. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/21691401.2016.1243545>
43. Wadhwa S, Paliwal R, Paliwal SR, Vyas SP. Hyaluronic acid modified chitosan nanoparticles for effective management of glaucoma: Development, characterization, and evaluation. *J Drug Target.* 2010 May; 18(4):292–302.
44. Alhalafi A. Applications of polymers in intraocular drug delivery systems. Vol. 10, *Oman Journal of Ophthalmology.* Medknow Publications; 2017. p. 3–8.