



**FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

TRABAJO FIN DE GRADO

TÍTULO:

**NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS
PARA ADMINISTRACIÓN INTRANASAL DE
AGENTES ANTIPARKINSONIANOS**

Autor: Patricia Zamorano Méndez

Tutor: Ana M^a Fernández Carballido

Convocatoria: Junio 2017-2018.

RESUMEN

La selectividad de paso que presenta la barrera hematoencefálica (BHE) es uno de los principales impedimentos a los que se enfrenta la terapéutica de las enfermedades neurodegenerativas. Grupo de patologías donde se incluye a la enfermedad de Parkinson, que ocupa el segundo lugar en la prevalencia de la población.

Esta revisión reúne una serie de artículos, cuyo objetivo es la demostración del uso de la administración intranasal para la evasión de la BHE y mejora de la terapéutica antiparkinsoniana, en comparación al uso de otras vías. La ruta ofrece en este sentido una gran cantidad de ventajas, pero, como se desarrollará en el trabajo, requiere para ser óptima, la formulación del fármaco en forma de nanopartículas poliméricas. Estrategia, que resuelve satisfactoriamente inconvenientes de la vía, como el aclaramiento mucociliar y la mala focalización del fármaco, entre otros.

Palabras clave: Enfermedad de Parkinson; Barrera hematoencefálica; Administración intranasal; Nanopartículas poliméricas.

ABSTRACT

The step selectivity of the blood-brain barrier (BBB) is one of the main impediments to the treatment of neurodegenerative diseases. This group of pathologies includes Parkinson's disease, which ranks second in the prevalence of the population.

This review brings together a series of articles whose objective is to prove the use of intranasal administration in order to avoid the BBB and to improve antiparkinsonian therapy, in comparison with the use of other routes. The route offers a lot of advantages in this sense, but, as it will be developed in this work, it requires to be optimal, the formulation of the drug in the form of polymeric nanoparticles. This strategy satisfactorily resolves disadvantages of the pathway, such as mucociliary clearance, poor targeting of the drug and so on.

Keywords: Parkinson's disease; Blood-brain barrier; Nasal administration; Polymeric nanoparticles.

INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

La función protectora que ejerce la barrera hematoencefálica (BHE) en el cerebro limitando el paso de moléculas provenientes de la circulación sanguínea, supone un problema a la hora de tratar diversas patologías del SNC, ya que la mayoría de moléculas y fármacos no pueden atravesar la BHE y llegar al parénquima cerebral (Tajes y cols., 2014). Por ello, patologías como las enfermedades neurodegenerativas, dentro de las que se incluye la enfermedad de Parkinson en la que nos centramos en el siguiente trabajo, siguen sin tener un tratamiento terapéutico no-invasivo, totalmente efectivo, óptimo o curativo.

Enfermedad de Parkinson

La enfermedad de Parkinson (EP) es uno de los trastornos neurodegenerativos del sistema nervioso central más común, siendo la segunda enfermedad degenerativa más prevalente, (después de la enfermedad de Alzheimer). La prevalencia de la enfermedad indica que está claramente relacionada con la edad, presentando una tasa de incidencia anual en los países de ingresos altos de 14/100.000 habitantes de la población total y 160/100.000 personas >65 años (Ascherio y Schwarzschild, 2016). Se caracteriza por la presencia de temblor en reposo, bradicinesia, rigidez, y alteración de los reflejos posturales como signos cardinales de la enfermedad. En algunos pacientes estas anomalías de la función motora se asocian con demencia.

Fisiopatológicamente, la EP está caracterizada por la degeneración de neuronas dopaminérgicas en la sustancia negra *pars compacta* (SNpc), estas células normalmente liberan dopamina en sus terminales axónicas en el cuerpo estriado y forman parte del sistema extrapiramidal de regulación motora, por lo mismo, su pérdida se traduce en los trastornos del movimiento descritos anteriormente (Caudo y Luquin, 2011).

El desarrollo de la forma idiopática de la EP se asocia a la exposición de factores ambientales, aunque también hay formas familiares o hereditarias; en estos casos la enfermedad se ha asociado a mutaciones en los genes que codifican para proteínas como α -sinucleína y parkina. Sin embargo, el conjunto de mecanismos patogénicos se engloban dentro de una misma ruta final, en la que el estrés oxidativo dependiente de la dopamina, es el principal proceso que produce el deterioro neuronal (Gómez-Chavarín y cols., 2012).

Siendo la disminución de los niveles de dopamina la causa fisiopatológica de la enfermedad, la farmacología mantiene abiertos cuatro frentes de investigación con un único objetivo, la recuperación de los niveles de dicho neurotransmisor. Así se investiga sobre fármacos (Jordán, 2003):

- Precursores de la síntesis de dopamina, como la levodopa, siendo el fármaco más eficaz para el tratamiento de la EP, capaz de atravesar la BHE. Acompañada siempre, de un inhibidor de la dopa-descarboxilasa periférica como la benserazida y la carbidopa.
- Potenciadores de su liberación en los botones sinápticos, como la amantadina.
- Agonistas de los receptores dopaminérgicos, divididos en dos grupos; los de tipo ergolínico como la bromocriptina y los no ergolínicos como el ropinirol y el pramipexol.
- Inhibidores de las enzimas encargadas de su catabolismo, como la monoamino oxidasa B (MAO B), destacando la selegilina y rasagilina, o la enzima catecol-O-metiltransferasa (COMT); la entacapona y la tolcapona son dos fármacos de este grupo.

Análogamente, existe otro grupo farmacológico para el tratamiento de la EP, que son las drogas anticolinérgicas centrales, que presentan la acción de disminuir la actividad de la acetilcolina, ya que este neurotransmisor se encuentra aumentado en la enfermedad, al romperse el equilibrio que debe de existir entre la dopamina y la acetilcolina. El uso de esta medicación resulta eficaz en el control del temblor y la rigidez, descritos anteriormente (Malgor y Valsecia, 2010).

Barreras que impiden la administración de medicamentos al SNC

El cerebro es un órgano altamente protegido que limita el transporte de medicamentos al parénquima cerebral a partir de tres barreras: la BHE, formada en la interfaz entre el encéfalo y los vasos sanguíneos; la barrera sangre líquido cefalorraquídeo (BSLCR), localizada en el plexo coroideo, y por último; la barrera sangre-aracnoides, que la constituyen células planas aracnoides adheridas a la pared de los vasos de la duramadre (Loch-Neckel y Koepp, 2010).

La Barrera Hematoencefálica (BHE) es una barrera dinámica que protege al cerebro contra organismos invasores y sustancias no deseadas. También es la barrera que tiene

mayor importancia en el impedimento del paso de fármacos al cerebro a partir de la circulación sistémica (Chen y Liu, 2011). Consta de vasos formados por células endoteliales, que se apoyan de forma secundaria por otros componentes celulares, donde se incluyen los pericitos que se encuentran en la lámina basal abluminal, los astrocitos perivasculares cuyas prolongaciones forman los pies terminales alrededor de los capilares, la lámina basal de la pared capilar y la microglía (Figura 1). El endotelio de los capilares cerebrales que forman la BHE se caracteriza porque cada borde celular está íntimamente unido a la célula adyacente (uniones estrechas), sella de ese modo la hendidura intercelular lo que hace impermeable a la pared interna del capilar cerebral. Además el endotelio de los capilares encefálicos de la BHE es continuo, a diferencia, del de otros tejidos corporales, en los que el mismo, es fenestrado y por ende permeable (Escobar y González, 2008).

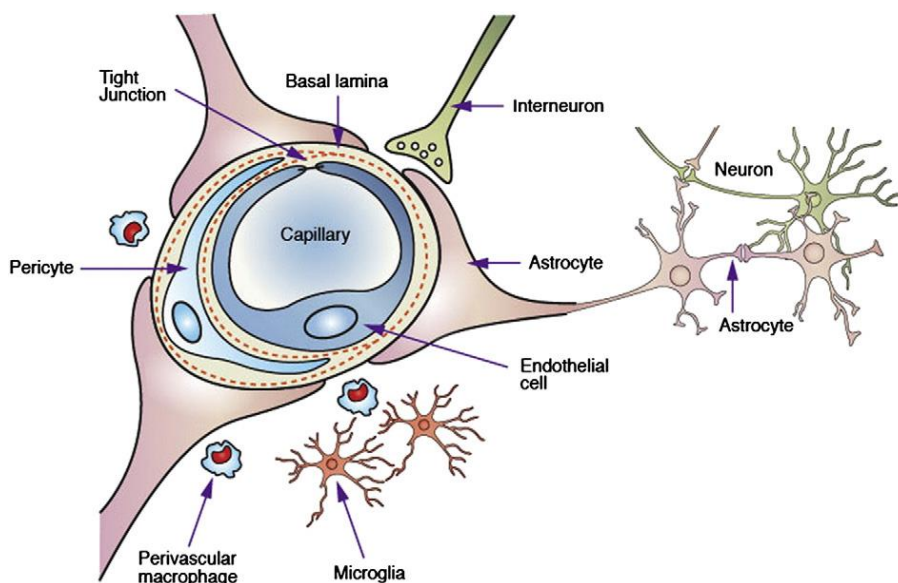


Figura 1: Representación esquemática de la Barrera hematoencefálica (BHE) y otros componentes de la unidad neurovascular. (Chen y Liu, 2011)

La limitada permeabilidad que muestra su estructura, así como la selectividad de paso que controlan las células endoteliales por las que esta formada, dificultan entre otras cosas, el paso de numerosos fármacos potencialmente eficaces para el tratamiento de múltiples enfermedades del SNC, como la enfermedad de Parkinson. Impidiendo que los mismos alcancen concentraciones suficientes en su lugar de acción. Todo esto, conlleva a la realización de numerosas investigaciones, en las que se presentan diferentes estrategias con las cuales mejorar la penetración de los fármacos a través de la BHE y mejorar así su concentración en su lugar de acción.

Sistemas de transporte para el paso a través de BHE

Para la mejora de estrategias de penetración a través de la BHE, se deben de conocer los distintos sistemas de transporte implicados en la absorción de compuestos por el cerebro a través de la BHE (Figura 2); donde se incluye el transporte pasivo, que consiste en la difusión pasiva de sustancias, que depende de forma directamente proporcional del gradiente de concentración y de la liposolubilidad y de forma inversamente proporcional del peso molecular e ionización del compuesto. Por otro lado, encontramos el transporte activo, mediado por portadores, receptores, adsorción y transporte activo de salida (Loch-Neckel y Koepp, 2010; Zou y cols., 2013).

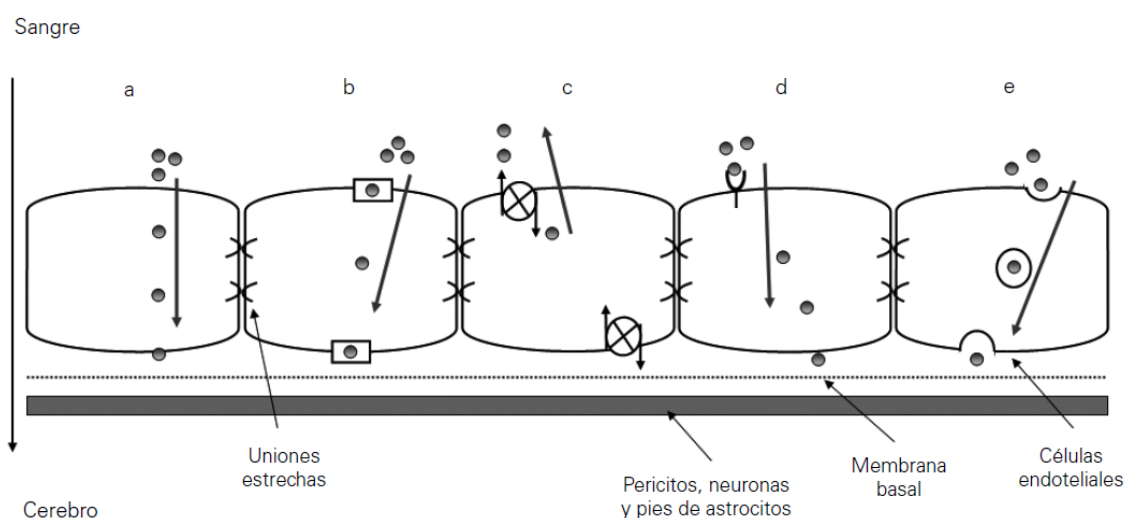


Figura 2. Los distintos sistemas de transporte que se pueden producir en la BHE: a) Permeabilidad pasiva; b) Transporte mediado por portadores; c) Transporte activo de salida; d) Transporte mediado por receptores; e) Transporte mediado por adsorción. (Loch-Neckel y Koepp, 2010)

Estrategias para administración de fármacos en el cerebro

Conocidos los diferentes mecanismos de transporte presentes en la BHE, nos enfrentamos al reto de desarrollar métodos eficaces que permitan la difusión de medicamentos a través de la BHE. Estas estrategias a seguir se pueden dividir en dos grandes grupos; las técnicas invasivas y las técnicas no invasivas (Loch-Neckel y Koepp, 2010).

Dentro del grupo de técnicas no invasivas, que permiten favorecer el paso de agentes terapéuticos a través de BHE, la administración intranasal ha despertado un gran interés entre los investigadores. Esta vía de administración presenta una mayor utilidad para los tratamientos crónicos, como es el caso de la farmacoterapia de la EP, que las vías

parenterales, debido a su fácil administración. De esta forma, en el trabajo se seleccionó la administración intranasal que como se desarrollara a continuación, aportaba numerosas ventajas, con respecto a otras vías de administración.

Junto con esta forma de administración, se abordó también otra estrategia que destaca, por el creciente interés con el que cuenta por la comunidad científica, que es el desarrollo de nanopartículas poliméricas. Sistema de liberación de fármacos, con un gran auge en la actualidad en el desarrollo de formulaciones que tienen que atravesar la BHE y que combinado con la vía nasal, optimiza sus resultados.

Administración intranasal

En los últimos años, se ha incrementado el interés de la vía nasal, ruta explotada de forma convencional para el tratamiento local de diferentes patologías como, la rinorrea, la congestión nasal, la sinusitis y las infecciones (Kozlovskaya y cols., 2014).

El creciente interés, se debe a su reciente aplicación para la administración de fármacos al cerebro, que la posiciona como una de las rutas más convenientes para el paso a través de BHE (Tabla 1), al ser no invasiva, fiable y segura. Siendo capaz de lograr una llegada rápida y con altos niveles de fármaco al cerebro, ya que presenta un elevado grado de vascularización y elevada permeabilidad. También, la ruta es interesante, por dar la posibilidad de administrar de forma directa los fármacos al parénquima cerebral, la vía evita además el tracto gastrointestinal y el metabolismo de primer paso hepático, lo que mejora la biodisponibilidad de los fármacos (García-Corvillo, 2016).

En cuanto a los mecanismos o rutas que siguen los fármacos para llegar al parénquima cerebral a través de la vía i.n. (Figura 3), se observa que los fármacos una vez que han pasado a la mucosa nasal, a través del epitelio nasal por endocitosis clatrina-dependiente, pueden llegar al cerebro, a través de rutas directas; nervios olfatorio y/o trigeminal, o indirectamente, por absorción a la circulación sistémica y paso a través de

BENEFICIOS	NASAL	ORAL	PARENTERAL
Carga de fármaco	Alta	Baja	Alta
Inicio de acción	Rápido	Lento	Rápido
Dolor en el sitio de administración	No	No	Si
Autoadministración	Si	Si	No
Evasión de BHE	Si	No	No
Cumplimiento del paciente	Alto	Alto	Bajo
Metabolismo de primer paso	No	Si	No
Degradación fármaco	Baja	Alta	No

Tabla 1: Principales ventajas que ofrece que entrega nasal de fármacos al cerebro en comparación con otras vías de administración.

la barrera hematoencefálica. El uso de una ruta u otra se mide a través de parámetros como, el índice de eficiencia de focalización en drogas cerebrales (% DTE) que refleja la acumulación del fármaco en el cerebro en comparación con la administración i.v. y el porcentaje de transporte directo de nariz a cerebro (% DTP) que refleja el porcentaje de la dosis que llega al cerebro a través de rutas directas (Kozlovskaya y cols., 2014).

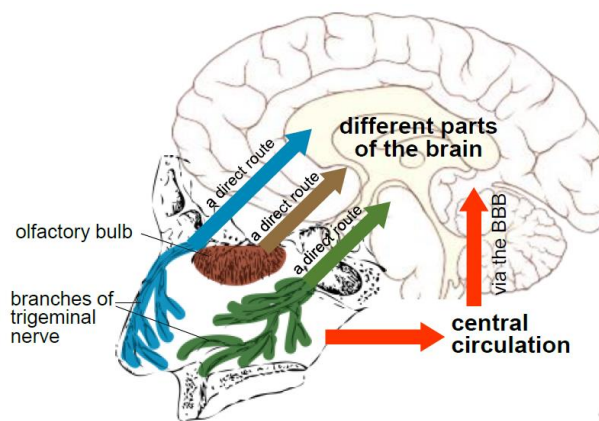


Figura 3: Rutas de llegada al cerebro (Kozlovskaya y cols., 2014)

La búsqueda de formulaciones óptimas para la llegada de fármacos al SNC a través de este tipo de administración, es objeto de numerosas investigaciones, ya que la misma debe proveer un transporte rápido para que el principio activo pase a través de la mucosa nasal y un largo tiempo de residencia en la cavidad nasal para superar el aclaramiento mucociliar, principal desventaja de la vía. Una forma prometedora de solucionar estos problemas es el empleo de nanopartículas poliméricas biodegradables, que presenten propiedades mucoadhesivas y así de esta manera puedan aumentar el tiempo de permanencia del principio activo y lograr una mayor absorción, mejorando el contacto íntimo con la mucosa (Jafarieh y cols., 2014).

Nanopartículas poliméricas

La Iniciativa Nacional de Nanotecnología (<http://www.nano.gov>) define la nanotecnología como la producción de materiales en la escala de 1 a 100 mil millonésimas de metro (1-100 nm), al menos en una dimensión. Esta disciplina relativamente reciente, ha revolucionado el campo de las ciencias farmacéuticas, englobando la producción de diversos sistemas nanoparticulados, eficaces para su uso como herramienta de diagnóstico y de tratamiento. Dentro de los nanocarriers empleados en la terapéutica se encuentran los liposomas, las micelas, las nanopartículas metálicas, lipídicas y poliméricas.

En el siguiente trabajo, nos centramos en el uso de nanopartículas (NPs) poliméricas, divididas en dos grupos en función de su estructura interna; nanoesferas que son

sistemas matriciales donde el fármaco está disperso en el seno de una matriz polimérica y nanocápsulas que son sistemas de tipo reservorio en los que el fármaco se encuentra en una cavidad central cubierta por una membrana polimérica que controla su cinética de liberación (Gómez-Gaete, 2014).

Las NPs poliméricas han recibido un creciente interés, por presentar una elevada capacidad para controlar la velocidad de liberación del fármaco, prolongar la duración del efecto terapéutico, capacitar el encapsulamiento de los fármacos, permitir la entrega de medicamentos a sitios específicos y liberar el fármaco más rápido en comparación a otros sistemas, gracias a su elevada área de superficie.

Además, estos sistemas son capaces de proteger el medicamento encapsulado de la degradación biológica y/o química y de su transporte extracelular a través de las proteínas de eflujo de P-gp, lo que es de especial interés en la administración nasal. A su vez, su pequeño diámetro permite que las NPs sean transportadas transcelularmente a través de las neuronas olfativas al cerebro por las diversas vías endocíticas en la membrana olfativa (Mittal D, 2016).

En cuanto a los polímeros empleados para la obtención de las mismas se encuentran polímeros naturales (dextrano, quitosano), semisintéticos (derivados de celulosa) o sintéticos poly(acrilatos), poly(anhídridos), poly(acrilamidas) y poly(ésteres). Entre estos últimos, el más utilizado para la elaboración de nanopartículas es el copolímero sintético ácido poly (láctico-co-glicólico) PLGA (Gómez-Gaete, 2014).

Los artículos revisados para la realización del trabajo emplearon el quitosano polisacárido natural, cuyas características de biodegradabilidad, biocompatibilidad y mucoadhesión, lo convierten en un gran candidato para mejorar la absorción del fármaco en la mucosa nasal (García-Corvillo, 2016). Y también se utilizó el PLGA, polímero sintético biodegradable, biocompatible y de baja toxicidad siendo muy apropiado por tanto, como sistema de liberación en ambientes biológicos.

OBJETIVO

El objetivo de este trabajo es realizar una revisión bibliográfica sobre la administración intranasal de nanopartículas poliméricas para mejorar la eficacia de los tratamientos empleados en el Parkinson.

Para alcanzar este objetivo en primer lugar se han realizado búsquedas en diferentes bases de datos, sobre la biodistribución de agentes antiparkinsonianos en el cerebro tras la administración intranasal y, posteriormente, se estudia las ventajas y mejoras de paso a través de BHE con la utilización de nanopartículas poliméricas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para la realización de esta revisión bibliográfica se hizo una búsqueda bibliográfica en diferentes bases de datos como Pubmed, Scielo, Google académico, Medline, Research gate, Bucea; utilizando como palabras clave: “Barrera hematoencefálica”, “Paso a través de barrera”, “Administración nasal”, “Nanopartículas”, “Enfermedad de Parkinson”, tanto en castellano como en inglés. De los artículos encontrados, se seleccionaron aquellos publicados en años recientes y científicamente válidos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La revisión se inició tratando de demostrar la eficacia de la administración nasal en el tratamiento de la enfermedad de Parkinson.

La mayoría de la farmacoterapia utilizada para la EP se encuentra comercializada para su administración por vía oral. Centrándonos en su tratamiento más eficaz la Levodopa (L-dopa), precursor metabólico de la dopamina, observamos que en la búsqueda de medicamentos comercializados con este principio activo en la base de datos CIMA, todos están indicados para su administración por vía oral, salvo Duodopa® 20 mg/ml + 5 mg/ml gel intestinal, indicado para ser administrado por vía intestinal. Combinándose siempre en todas las formulaciones, la L-dopa con un inhibidor de las enzimas encargadas de su catabolismo, como la dopa-descarboxilasa, destacando la carbidopa (C-dopa) y la benserazida, o la enzima catecol-O-metiltransferasa (COMT); la entacapona y la tolcapona.

Sin embargo, se ha demostrado que esta administración es errática no dando seguridad en los resultados clínicos. La explicación de la variabilidad de su acción por esta vía puede deberse a cambios en la absorción provocados por la dieta y por factores gástricos, pues algunos aminoácidos compiten con el transportador que media la absorción de la L-dopa en el tracto gastrointestinal. Además, la disfagia es una de las manifestaciones que presenta la EP, con una prevalencia superior a 52%, que dificulta el uso y la viabilidad de esta vía en muchos pacientes (Nyholm, 2006).

Los inconvenientes de la vía oral han impulsado la investigación de otras vías de administración que mejoren los resultados del fármaco. Esto ha hecho considerar la administración nasal como una de las mejores opciones para su sustitución, a la vista de las ventajas anteriormente comentadas y por ser una de las vías más cómodas para la autoadministración que ofrece una mayor adhesión al tratamiento por parte del paciente.

Para la determinación de la viabilidad de la administración intranasal de la L-dopa Kim y cols. (2009), inician un estudio en el que evalúan los perfiles farmacocinéticos de soluciones de L-dopa administradas por vía nasal, oral e intravenosa comparando los resultados obtenidos de cada una de las mismas. Para ello, se usaron ratas Sprague-Dawley en anestesia profunda e inmovilizadas, que se dividieron en tres grupos: grupo de administración nasal, dividido a su vez en dos, uno utilizaba solo una solución de L-dopa (2,5mg/kg) y el otro probaba la eficacia de la combinación con C-dopa (0,63mg/kg) junto con la L-dopa (2,5mg/kg). Los otros dos grupos probaban la administración intravenosa y la administración oral utilizando en ambas una dosis de 80mg/kg de L-dopa y 20mg/kg de C-dopa. Los resultados se determinaron hallando las concentraciones en sangre y cerebro. Obteniéndose, que la L-dopa aparece rápidamente en la sangre y en cerebro. Sin embargo, si comparamos el AUC cerebro/ AUC sangre de la L-dopa que contiene C-dopa en la formulación nasal (0,81) con el AUC cerebro/ AUC sangre, tras la administración oral (0,97), se observa una menor relación de fármaco que ha alcanzado el cerebro tras la administración intranasal. Una posible explicación, es que el transporte directo de la nariz al cerebro es mínimo en comparación con la cantidad que se absorbe a circulación sistémica. Aun así, la biodisponibilidad absoluta de las preparaciones orales y nasales que contienen C-dopa fueron 17,7 y 45,4%, respectivamente, evidenciándose la eficacia de la administración intranasal. La C-dopa causó una reducción del metabolismo al disminuir 1,2 veces la tasa de eliminación de la L-dopa. Aunque la vida media después de la administración nasal fue corta (30 minutos), en sangre y cerebro, independientemente de la adicción de C-dopa. Por otro lado, la administración i.v. fue prometedora debido a la rápida absorción. Tras el análisis de los resultados se concluye que la administración nasal de L-dopa es viable y puede ser utilizada como terapia, pero únicamente de rescate, al presentar una corta vida media, en pacientes que presenten fluctuación de síntomas con administración oral de L-dopa.

Demostrada su viabilidad, se quiso caracterizar el efecto que producía el fármaco utilizando dicha vía, para ello, Chao y cols. (2011), realizan un estudio del efecto de la L-dopa administrada a nivel intranasal, empleando test de comportamiento para evaluar la eficacia. El estudio se realizó con o sin pretratamiento con benserazida en ratas lesionadas con 6-OHDA en la región nigro estriada. Se utilizaron 20 ratas Wistar con lesiones unilaterales en el fascículo anterior del cerebro y agotamiento de un 97% de la dopamina estriatal. Evaluándose, con la prueba de campo abierto el cambio de comportamiento y alteraciones locomotoras, con la prueba de la rejilla horizontal la precisión con la que los animales se agarraban con sus extremidades a la rejilla y con la prueba de cilindro la marcha regular, después de la administración de L-dopa i.n. o la administración de vehículo, con o sin pretratamiento con benserazida. Los resultados obtenidos muestran que la administración i.n. de L-dopa tiene efectos en el comportamiento 10-20 minutos después del tratamiento, pero no influyó en la postura asimétrica que medía la prueba de cilindro. Por otro lado, se observó que la L-dopa sin pretratamiento con benserazida lograba efectos más positivos en el comportamiento. Estos resultados sugieren que la L-dopa puede eludir la BHE después de la administración nasal y aliviar las deficiencias motoras de animales con lesiones unilaterales de la región nigro estriada inducidas con 6-OHDA sin requerir combinación con benserazida. Sin embargo, a pesar de los resultados de mejora, el estudio apoya solo la administración de L-dopa por vía i.n. como tratamiento adyuvante para la EP.

Los dos estudios desarrollados, muestran la eficacia de la vía nasal utilizando soluciones del fármaco L-dopa y ambos concluyen que la vía nasal es una posible alternativa a la vía oral pero en ningún caso sustituyen a la misma, pues indican que el tratamiento se utilice de forma adyuvante y como terapia de rescate para tratar las complicaciones o crisis de la enfermedad, posiblemente debido a la corta vida media que presenta la formulación y a la mala focalización de fármaco (DTE), que muestra que gran cantidad del mismo pasa a circulación sistémica en lugar de dirigirse por las rutas directas hacia el cerebro tras su administración nasal.

A la vista de los resultados obtenidos, se trató de realizar una búsqueda de formulaciones que mejoraran la eficacia de la administración nasal. Con el fin de poder proponer, la posibilidad de sustituir la administración oral por la vía nasal para optimizar el efecto de los tratamientos comercializados indicados para la EP.

En la búsqueda realizada se encontró que numerosos estudios, demostraban la mejora de la administración nasal para el paso de fármacos al cerebro, cuando son vehiculizados en nanopartículas.

Continuando con el mismo principio activo con el que se abordaron los estudios anteriores, la L-dopa, se llega al trabajo realizado por Sharma y cols. (2013), estos autores tratan de desarrollar un sistema de administración directo de la nariz al cerebro, para mejorar el proceso de absorción y el paso a través de BHE, evitando de esta forma también la degradación de L-dopa a nivel periférico y poder eliminar el uso en combinación de carbidopa. Para ello, se desarrollaron nanopartículas de quitosano cargadas con L-dopa (CNL) a partir del método de gelificación iónica (Figura 4), utilizándose ácido acético 1% para disolver el quitosano 0,6% al que se le incorporó la L-dopa y por otro lado se usó TPP 1mg/ml disuelto en agua, goteando la solución de TPP sobre la de quitosano y después sometiendo la solución a sonicación para la reducción de tamaño.

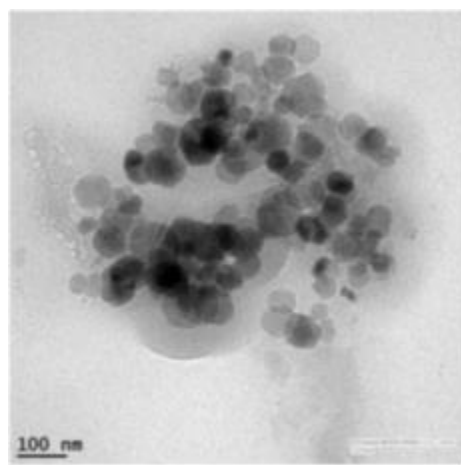


Figura 4: TEM de las nanopartículas con el tamaño.

Cuando se obtuvieron, parte de las nanopartículas se incorporaron a un gel termo-reversible que se preparó también utilizando Pluronic® PF127 (CNLPgel). Las preparaciones de CNL y CNLPgel se optimizaron hasta conseguir los parámetros de formulación óptimos. Tras su optimización, se analizó la cantidad de L-dopa que llegaba al cerebro, utilizando modelos animales, a partir de las formulaciones que se utilizaron en el estudio: nanopartículas en medio salino (CNL), solución de L-dopa en gel (LPgel), solución de L-dopa en medio salino (DS) y nanopartículas en gel (CNLP), todas ellas administradas por vía nasal. Los resultados obtenidos se muestran en la Figura 5.

Observándose, que la suspensión de CNL en solución salina era la formulación que produce el porcentaje de fármaco en cerebro más elevado, seguida de cerca por el fármaco disperso en gel Pluronic® simple. Lo que demuestra que el quitosano de las nanopartículas (CNL) mejora la adhesión, que genera una reducción del aclaramiento mucociliar y aumenta el tiempo de residencia del fármaco, que mejora la absorción del

mismo. Por otro lado, el uso del gel Pluronic® F127 termorreversible, mejora también la administración, al aumentar el tiempo de residencia del fármaco en la mucosa.

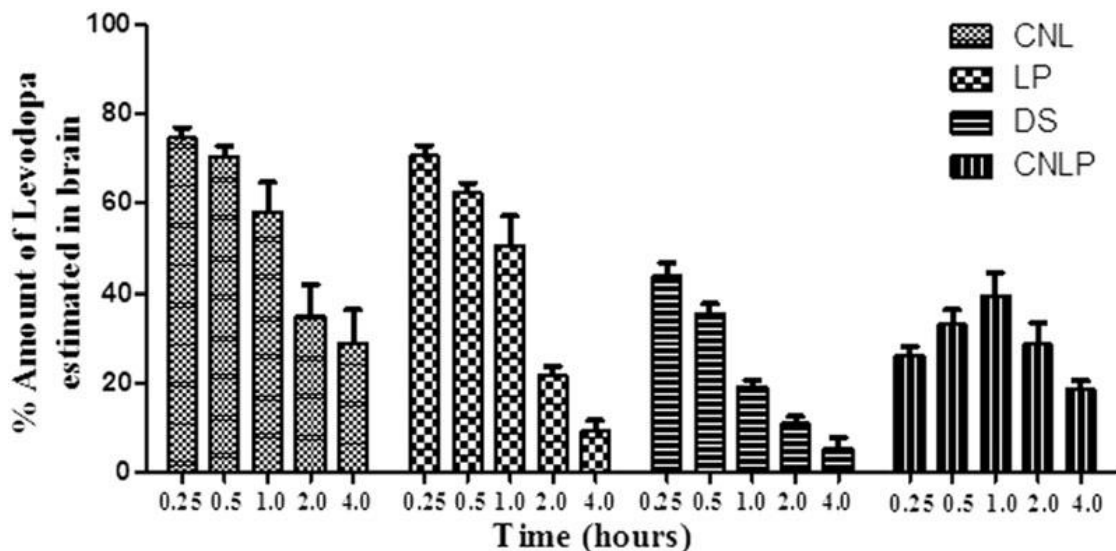


Figura 5: Porcentaje de fármaco administrado que alcanza el cerebro con respecto al tiempo.

Sin embargo, la combinación del gel junto con las nanopartículas no ofrece buenos resultados, posiblemente porque la elevada viscosidad del gel puede empeorar la absorción de las nanopartículas, reduciendo la velocidad de migración de las mismas.

Por tanto, las conclusiones que se sacaron del estudio son que la administración nasal produce unos mejores resultados en la llegada del fármaco al cerebro, cuando se utilizan formulaciones que mejoren la adhesión, aumentando el tiempo de residencia en la mucosa y evitando de esta forma el aclaramiento mucociliar.

Demostrada la eficacia de la formulación en forma de nanopartículas para incrementar el porcentaje de llegada de fármaco a su lugar de acción, se observó también que este tipo de sistema de liberación, no solo mejora la entrada de fármaco al cerebro, sino que además incrementa el tiempo de duración del efecto del fármaco con respecto a una solución del fármaco estándar. Al ofrecerse una liberación prolongada con este sistema. Esto se demuestra en un estudio realizado por Gambaryan y cols. (2014), en el que se utiliza una formulación de L-dopa cargada en nanopartículas de PLGA con un tamaño medio de 250/50 nm para su administración i.n., comparándola con la administración i.n. del fármaco estándar. Los resultados se analizaron, a partir de las puntuaciones obtenidas en pruebas de comportamiento, realizadas a ratas a las que se les indujo la EP por 6-OHDA, que se agruparon en función de la formulación que se les administró. Se

utilizaron 48 ratas con lesión unilateral y 12 intactas, divididas en cinco grupos: grupo 1 formado por ratas intactas, grupo 2 ratas no tratadas a las que se les administró NPs blancas, grupo 3 tratado con L-dopa a una dosis de 0,35mg/kg, grupo 4 recibe L-dopa (0,35mg/kg) junto con un inhibidor de la dopa-descarboxilasa, benserazida (0,08mg/kg) y grupo 5 se le administra una suspensión de NPs de PLGA con L-dopa (0,35mg/kg). Administrándose todas las formulaciones una vez al día, por vía intranasal durante todos los días a lo largo de 13 semanas.

Las puntuaciones de las tareas realizadas en los test de comportamiento se recogieron a los 30 minutos de la administración del medicamento durante el periodo de tratamiento y a las 24 horas después de la administración. Mostrado los resultados en forma de % de puntuación obtenido con respecto al grupo control de ratas intactas (Figura 6 y 7).

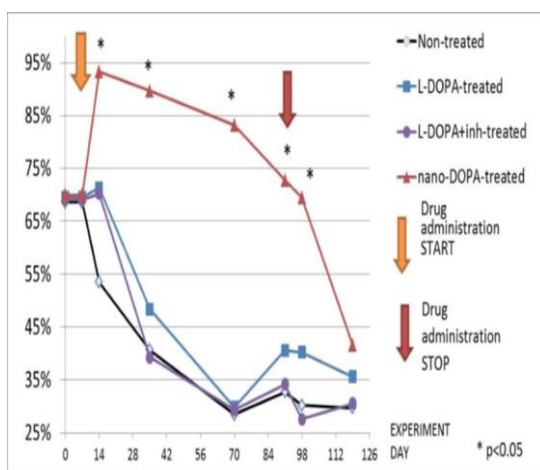


Figura 6: Puntuación obtenida 30 minutos después de la administración del tratamiento.

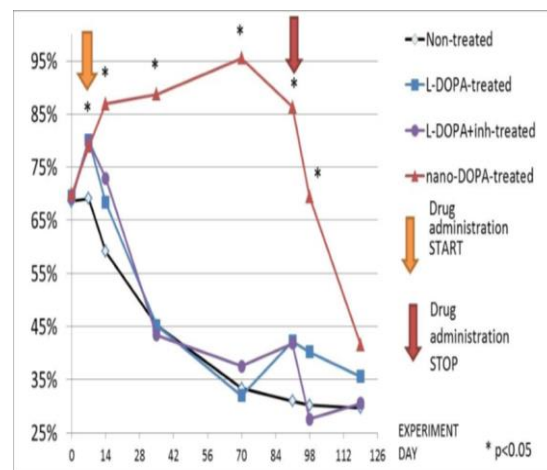


Figura 7: Puntuación obtenida 24 horas después de la administración del tratamiento.

Tal y como se observa en los gráficos, las puntuaciones obtenidas por el grupo que recibió las nanopartículas de L-dopa, fueron significativamente más altos que el resto de los grupos durante todo el periodo de tratamiento. Además, los resultados eran significativamente más altos que el resto de formulaciones, una semana después de la supresión del fármaco.

En resumen, las NPs de L-dopa muestran no solo una mejoría en la función motora durante todo el periodo de tratamiento, sino que además consiguen que el efecto permanezca hasta una semana después de suspender el mismo. Lo que las convierte en una forma prometedora de sistema de liberación para un tratamiento crónico y una forma de formulación óptima para conseguir el máximo rendimiento por vía nasal.

En vista de los resultados obtenidos, se quiso profundizar más en la búsqueda de estudios que demostraran la eficacia de la administración nasal y de la formulación en forma de nanopartículas. Realizándose una revisión de estudios que emplearan otros principios activos indicados para la EP, que mejoraran al igual que lo que se ha observado con la L-dopa su efecto, al utilizar esta vía y este tipo de formulación. Con el fin de poder concluir, que es posible utilizar esta estrategia, como una prometedora alternativa para la sustitución de las formulaciones comercializadas de administración oral para el tratamiento de la EP.

Se encontraron en esta búsqueda tres principios activos, incluidos en la farmacoterapia del Parkinson, de gran relevancia y de primera línea de uso.

El primero de ellos se engloba dentro del grupo farmacoterapéutico de los inhibidores de la monoamino oxidasa tipo B (IMAO B), inicialmente considerados junto con su efecto inhibidor de la enzima MAO-B, como agentes neuroprotectores por su capacidad de prevenir la oxidación de MPTP¹ y de la dopamina (Caudo y Luquin, 2011). El fármaco a tratar fue la rasagilina, representante del grupo que demuestra en la actualidad, el efecto neuroprotector (Olanow y cols., 2009). La ruta oral del fármaco, produce efectos adversos a nivel gastrointestinal y discinesias que conllevan al incumplimiento del paciente. Además la rasagilina se absorbe rápidamente, pero presenta una corta vida media y una baja biodisponibilidad por vía oral 36% debido al efecto de primer paso hepático (Fernández y cols., 2011). Esto produce que la estrategia que se sigue en este trabajo, pueda ser una opción positiva para mejorar este tratamiento.

Los otros dos fármacos encontrados, se engloban dentro del grupo de agonistas dopaminérgicos y se dividen a su vez en dos grupos; los de tipo ergolínicos siendo la bromocriptina el representante del mismo que se trató y los no ergolínicos centrándonos en este caso en el ropinirol. En ambos, se ha investigado también la posibilidad de mejora de su eficacia utilizando la vía nasal y su formulación en forma de nanopartículas. Pues la administración oral de ambos, da lugar a una baja biodisponibilidad provocada por el elevado metabolismo de primer paso hepático y en el caso del ropinirol la vía oral provoca efectos secundarios gastrointestinales, que

¹ MPTP: Neurotoxina (1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina), cuya ingestión conlleva a la destrucción de neuronas en la sustancia negra del cerebro, por lo que produce síntomas muy similares a los observados en la enfermedad de Parkinson. (Sian y cols., 1999)

reducen la adhesión y el cumplimiento por parte del paciente (Shadab y cols., 2012; Jafarieh y cols., 2014).

Los ensayos realizados con los mismos para la demostración de la eficacia de la vía nasal junto con el empleo del sistema de liberación de nanopartículas, se recogen en la tabla 2, donde figuran los objetivos de cada uno de los estudios, junto con técnica de formulación y el tipo de nanopartícula que se empleó en cada uno de ellos, así como el tamaño medio de las mismas, seguido de la mejora terapéutica que se demostró.

FÁRMACO	Rasagilina (RAS)	Bromocriptina (BRC)	Ropinirol (RH)
Objetivo	Eficacia de NPs i.n. vs NPs i.v. y solución i.n.	Eficacia de NPs i.n. vs NPs i.v. y solución i.n.	Eficacia NPs i.n. vs solución i.n.
NPs	NPs de quitosano	NPs quitosano	NPs quitosano
Técnica De Formulación	Gelificación iónica	Gelificación iónica	Gelificación iónica
Tamaño medio (nm)	151.1±10.3	161.3±4.7	173.7±2.32
Avance terapéutico	Mejora de la absorción de RAS en cerebro por vía in. DTI ¹ >1, el fármaco sigue un transporte directo al cerebro.	Mejora de la absorción de BRC en cerebro por vía in. DTI ¹ >1, el fármaco sigue un transporte directo al cerebro.	Mejora del perfil de liberación (18h en NPs) y aumento de la absorción a nivel cerebral.
Referencia	Mittal y cols., 2014	Shadab y cols., 2012	Jafarieh y cols., 2014

Tabla 2: Ensayos revisados de sistemas de liberación de nanopartículas administradas por vía nasal de tratamientos para la EP. 1-DTI= Índice de transporte directo.

CONCLUSIÓN

La administración intranasal puede ser una prometedora alternativa a la vía oral, al evitar muchos de los inconvenientes de la ruta oral y ofrecer una administración cómoda, que permite la autoadministración, mejorando así el cumplimiento por parte del paciente.

El uso de nanopartículas poliméricas para la administración de agentes antiparkinsonianos, mejora la adhesión y el tiempo de residencia en la mucosa, reduce el aclaramiento mucociliar y aumenta la absorción de los fármacos. Además, el uso de nanopartículas como transportadores de agentes antiparkinsonianos favorece su llegada al cerebro a través de las rutas directas, prolongando la duración de la acción y posibilitando el aumento de los intervalos posológicos.

Sin embargo los estudios realizados se han desarrollado únicamente en modelos animales, por tanto para demostrar la posibilidad de sustituir a las formas comercializadas, será necesario probar la eficacia en ensayos clínicos que valoren el beneficio/riesgo, así como también considerar el balance coste/beneficio.

BIBLIOGRAFÍA

- Ascherio, A. & Schwarzschild, M. (2018). Epidemiología de la enfermedad de Parkinson-Artículos- Intramed. [online] Intramed.net.
- Chao, O. Y., Mattern, C., De Souza Silva, A. M., y cols. (2012). Intranasally applied L-DOPA alleviates parkinsonian symptoms in rats with unilateral nigro-striatal 6-OHDA lesions. *Brain Research Bulletin*, 87(2–3), 340–345.
- Chen, Y., & Liu, L. (2012). Modern methods for delivery of drugs across the blood-brain barrier. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 64(7), 640–665.
- Di Caudo, C., & Luquin, M., (2011). Enfermedad de Parkinson. *Medicine*. Barcelona: Elsevier Doyma, 10(73), 4944-4951
- Escobar, A., & González, B., (2008). Barrera hematoencefálica. Neurobiología, implicaciones clínicas y efectos del estrés sobre su desarrollo. *Revista Mexicana de Neurociencia*, 9(5), 395–405.
- Fernández M., Negro S., Slowing K., y cols. (2011). An effective novel delivery strategy of RAS for Parkinson's disease. *International Journal of Pharmaceutics* 419: 271–80.
- Gambaryan, P. Y., Kondrasheva, I. G., Severin, E. S., y cols. (2014). Increasing the Efficiency of Parkinson's Disease Treatment Using a poly(lactic-co-glycolic acid) (PLGA) Based L-DOPA Delivery System. *Experimental Neurobiology*, 23(3), 246.

- García-Corvillo, M., (2016). Nanopartículas poliméricas de administración intranasal para la liberación de activos en el sistemas nervioso central. Sevilla: Ars Pharmaceutica, 57(1):27-35
- Gómez-Chavarín, M., Roldan-Roldan, G., Morales-Espinosa, R., y cols. (2012). Mecanismos fisiopatológicos involucrados en la enfermedad de Parkinson. Archivos de Neurociencias, 17(1), 26–34.
- Gómez-gaete, C., (2014). Nanopartículas Poliméricas: Tecnología y Aplicaciones Farmacéuticas. Revista Farmacologica de Chile, 7(2), 7–16.
- Jafarieh, O., Md, S., Ali, M., Baboota, S., y cols. (2015). Design, characterization, and evaluation of intranasal delivery of ropinirole-loaded mucoadhesive nanoparticles for brain targeting. Drug Development and Industrial Pharmacy, 41(10), 1674–1681.
- Jordan, J. (2003). Avances en el tratamiento de las enfermedades neurodegenerativas. Offarm, 22(3), 102-111.
- Kim, T. K., Kang, W., Chun, I. K., Oh, S. Y., Lee, Y. H., & Gwak, H. S. (2009). Pharmacokinetic evaluation and modeling of formulated levodopa intranasal delivery systems. European Journal of Pharmaceutical Sciences, 38(5), 525–532.
- Kozlovskaya, L., Abou-Kaoud, M., & Stepensky, D. (2014). Quantitative analysis of drug delivery to the brain via nasal route. Journal of Controlled Release, 189, 133–140.
- Loch-Neckel, G., & Koepp, J. (2010). La barrera hematoencefálica y la administración de medicamentos en el sistema nervioso central. Revista Neurología, 51(3), 165–174.
- Malgor, L. & Valsecia, M., (2010). Farmacología de las drogas antiparkinsonianas-Capitulo 5. Farmacología Malgor-Valsecia. 59-73
- Mittal, D., Md, S., Hasan, Q., Fazil, M., Ali, A., Baboota, S., & Ali, J. (2016). Brain targeted nanoparticulate drug delivery system of rasagiline via intranasal route. Drug Delivery, 23(1), 130–139.
- Nyholm, D. (2006). Pharmacokinetic Optimisation in the Treatment of Parkinson ' s Disease. Clinical Pharmacokinetics, 45(2), 109–136.
- Olanow, C.W., Rascol, O., Hauser, R., Feigin, P.D., y cols. (2009) A double-blind, delayed-start trial of rasagiline in Parkinson` s disease. The New England Journal of Medicine, 361(13): 1268-78.
- Shadab, M. D., Khan, R. A., Mustafa, G., Chuttani, K., y cols. (2013). Bromocriptine loaded chitosan nanoparticles intended for direct nose to brain delivery: Pharmacodynamic, Pharmacokinetic and Scintigraphy study in mice model. European Journal of Pharmaceutical Sciences, 48(3), 393–405.

Sharma, S., Lohan, S., & Murthy, R. S. R. (2014). Formulation and characterization of intranasal mucoadhesive nanoparticulates and thermo-reversible gel of levodopa for brain delivery. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 40(7), 869–878.

Sian, J., Youdim, M., Riederer, P., & Gerlach, M. (2018). MPTP-Induced Parkinsonian Syndrome. [online] [Ncbi.nlm.nih.gov](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/).

Tajes, M., Ramos-Fernández, E., Weng-Jiang, X., y cols. (2014). The blood-brain barrier: Structure, function and therapeutic approaches to cross it. *Molecular Membrane Biology*, 31(5), 152–167.

Zou, L.-L., Ma, J.-L., Wang, T., y cols. (2013). Cell-Penetrating Peptide-Mediated Therapeutic Molecule Delivery into the Central Nervous System. *Current Neuropharmacology*, 11(2), 197–208.