



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

**"Estrategias nanotecnológicas en terapias dirigidas al SNC"**

**TESIS**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
**QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

PRESENTA

**SERGIO CABELLO MODESTO**

ASESOR: DR. DAVID QUINTANAR GUERRERO

CUAUTITLÁN IZCALLI, EDO. DE MÉX. 2017



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.





UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN  
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR  
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

ASUNTO: VOTO APROBATORIO



M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ  
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN  
PRESENTE

ATN: I.A. LAURA MARGARITA CORTÁZAR FIGUEROA  
Jefa del Departamento de Exámenes Profesionales  
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: Trabajo de Tesis

**Estrategias nanotecnológicas en terapias dirigidas al SNC.**

Que presenta el pasante: **Sergio Cabello Modesto**  
Con número de cuenta: **303795009** para obtener el Título de la carrera: **Química Farmacéutico Biológica**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE  
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"  
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 18 de Agosto de 2016.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	M.F.C. Ma. Eugenia R. Posada Galarza	
VOCAL	D.E.S.S. Rodolfo Cruz Rodríguez	
SECRETARIO	Dr. David Quintanar Guerrero	
1er. SUPLENTE	Dra. Elizabeth Piñón Segundo	
2do. SUPLENTE	Dr. Roberto Díaz Torres	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).



---

---

## ÍNDICE

1. Introducción.....	1
2. Objetivo .....	5
2.1 Objetivos Particulares.....	5
3. Generalidades.....	5
3.1 Generalidades sobre administración de medicamentos.....	7
3.1.1 Farmacocinética: ingreso y distribución de un fármaco en el organismo.....	7
3.1.1.1 Influencia del pH sobre la absorción de fármacos.....	14
3.1.1.2 Distribución y Transportadores de membrana.....	16
3.1.2 Farmacodinamia.....	21
3.2 Generalidades sobre Barrera Hematoencefálica.....	25
3.2.1 Estructura de la Barrera Hematoencefálica.....	31
3.2.2 Influencia de las células gliales sobre la integridad de la Barrera Hematoencefálica.....	41
3.2.3 Mecanismos de permeación a través de la Barrera Hematoencefálica.....	44
3.2.3.1 Difusión pasiva.....	45
3.2.3.2 Transporte activo en la Barrera Hematoencefálica.....	47
3.2.3.3 Vía endocítica.....	56
3.2.4 Alteraciones en la permeabilidad de la Barrera Hematoencefálica.....	61
3.3 Generalidades sobre nanotecnología en medicina.....	66
3.3.1 Nanotecnología en: imagen, diagnóstico, tratamiento, seguimiento terapéutico y medicina regenerativa.....	66
3.3.2 Nuevas entidades químicas ó Nanoacarreadores funcionalizados para acceder al SNC.....	73

---

---

4. Sistemas nanoparticulados dirigidos al cerebro.....	84
4.1 Dendrímeros.....	85
4.2 Liposomas.....	95
4.3 Micelas Poliméricas.....	104
4.4 Nanoestructuras de Carbón.....	107
4.5 Nanopartículas Lipídicas.....	110
4.6 Nanopartículas Magnéticas.....	118
4.7 Nanopartículas Poliméricas.....	120
5. Estrategias empleadas para dirigir un nanoacarreador al Sistema Nervioso Central.....	123
5.1 Transporte mediado por el acarreador (CMT).....	124
5.2 Transporte mediado por los receptores (RMT).....	125
5.2.1 Empleo de Ligandos.....	127
5.2.2 Uso de Anticuerpos Monoclonales.....	131
5.3 Endocitosis mediada por Adsorción .....	133
5.4 Recubrimiento de nanoacarreadores.....	135
5.5 Unión a ligandos.....	138
5.5.1 Uniones covalentes.....	138
5.5.2 Uniones no covalentes.....	143
5.6 Modificación del medio.....	146
5.6.1 Influencia del campo magnético y del Ultrasonido.....	146
6. Análisis.....	149
7. Conclusiones.....	154
8. Referencias.....	157

---

---

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura</b>	<b>Descripción</b>	<b>Página</b>
1	Distribución de un fármaco en el organismo.....	8
2	Representación de las diferentes vías de administración.....	10
3	Comparación entre las diferentes vías de administración.....	11
4	Parámetros farmacocinéticos en la vía de administración oral.....	12
5	Influencia del pH sobre la absorción de un fármaco ácido.....	15
6	Influencia del pH sobre la absorción de un fármaco básico.....	16
7	Relación entre la expresión de proteínas transportadoras en determinados tejidos y la distribución de un fármaco.....	18
8	Expresión de las dos superfamilias de transportadores en algunos órganos.....	20
9	Curva Dosis- Respuesta (Eficacia de un fármaco).....	22
10	Curva Dosis- Respuesta(Potencia de un fármaco).....	22
11	Relación entre la estructura química y la actividad biológica.....	23
12	Tipos de receptores en el organismo.....	24
13	Ramificación y suministro de sangre a partir de la arteria aorta.....	26
14	Sistema Vascular Cerebral.....	27
15	Formación y circulación de LCR.....	29
16	Reabsorción y drenaje de LCR.....	30
17	Estructura y vascularización en las meninges craneales.....	33
18	Representación de las CECSC, ubicación y asociación con otras células.....	35
19	Representación de las uniones intercelulares entre las CECSC.....	39
20	Interacción entre las CECSC y los pies de astrocitos.....	42
21	Posibles rutas de ingreso de una sustancia al SNC.....	45

---

---

22	Difusión membranal de un soluto hidrófilo. ....	46
23	Representación de la estructura de un transportador del tipo ABC.....	48
24	Expresión y distribución de los distintos transportadores de glucosa en el SNC....	50
25	Expresión de transportadores sobre las membranas de las CECSC.....	55
26	Estructura de la clatrina y su forma de ensamble para formar vesículas.....	57
27	Endocitosis mediada por clatrina.....	58
28	Transcitosis mediada por caveolina.....	59
29	Diagrama que ilustra las estrategias empleadas para acceder al SNC.....	74
30	Fabricación de un “caballo troyano”.....	78
31	Administración vía intra-nasal.....	80
32	Estructura básica de un dendrímero.....	87
33	Estructura de un dendrímero de poliamidoamina (PAMAM).....	89
34	Estructura de un dendrímero de carbosilano.....	89
35	Estructura de un dendrímeroporfirínico.....	90
36	Mecanismo de acción antiviral propuesto para los dendrímeros.....	91
37	Absorción en diferentes tejidos empleando distintos dendrímeros.....	94
38	Estructura y clasificación de liposomas.....	98
39	Funcionalización de un liposoma con PEG y manosa.....	100
40	Eficacia de un antineoplásico formulado en liposomas.....	101
41	Estructura de una micelas poliméricas.....	106
42	Fullerenos.....	109
43	Farmacocinética de distintas formulaciones de SLN.....	113
44	Representación esquemática de una nanopartícula magnética funcionalizada.....	119
45	Influencia del campo magnético sobre las MNP.....	120

---

46	Representación de los dos tipos generales de nanopartículas.....	121
47	Algunos polímeros y copolímeros empleados para elaborar NP poliméricas.....	121
48	CECS y anticuerpos dirigidos contra caveolina.....	135
49	Estructura del Polietilenglicol (PEG).....	136
50	Principales polímeros empleados para la funcionalización de nanopartículas.....	139
51	Funcionalización de nanoacarreadores.....	140
52	Reactivo Traut e incorporación de grupos tioles.....	141
53	Reacción de Schiff entre una cetona y amina primaria.....	142
54	Unión covalente de ácido fólico a liposomas y nanopartículas poliméricas.....	143
55	Esquema de un anticuerpo de clase IgG.....	144
56	Unión no covalente entre la biotina y la avidina; para funcionalizar nanoacarreadores.....	146
57	Influencia del campo magnético sobre la distribución de nanopartículas magnéticas.....	147
58	Abatimiento de la BHE mediante el uso de FUS y un campo magnético.....	148

---

---

## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla</b>	<b>Descripción</b>	<b>Página</b>
1	Transportadores relacionados al flujo de lípidos en el SNC.....	52
2	Enfermedades que comprometen la integridad de la BHE.....	61
3	Algunos fármacos formulados para su administración intranasal.....	82
4	Dendrímeros desarrollados en la actualidad y su fase de investigación.....	95
5	SLN fabricadas actualmente.....	115
6	Formulaciones con nanopartículas en actual investigación.....	123

---

---

## Abreviaturas

<b>5-FU</b>	5-Fluorouracilo
<b>ACV</b>	Accidente Cerebro-Vascular
<b>ADF</b>	Factor derivado del astrocito
<b>ADN</b>	Ácido desoxirribonucleico
<b>AME</b>	Endocitosis mediada por adsorción
<b>ARMD</b>	Degeneración macular relacionada con la edad
<b>ASCT</b>	Transportador de aminoácidos ácidos
<b>ATP</b>	Adenosin Trifosfato
<b>AUC</b>	Área debajo de la curva de Concentración/tiempo
<b>BAAT</b>	Transportador de aminoácidos básicos
<b>BCRP</b>	Proteína asociada a la resistencia contra el cáncer de mama
<b>bFGF</b>	Factor de crecimiento básico de fibroblastos
<b>BHE</b>	Barrera Hematoencefálica
<b>BSLCR</b>	Barrera Sangre-Líquido Cefalorraquídeo
<b>CAD</b>	Cardiopatía coronaria
<b>CBSA</b>	Albúmina cationizada de suero bovino
<b>CECSC</b>	Células endoteliales de los capilares sanguíneos cerebrales
<b>cGT</b>	Glutamil Transpeptidasa
<b>Ch</b>	Colesterol
<b>Chol.</b>	Colina
<b>CL</b>	Cardiolipina
<b>CMC</b>	Concentración micelar crítica
<b>CME</b>	Concentración mínima efectiva
<b>CMT*</b>	Concentración mínima tóxica
<b>CMT</b>	Transporte mediado por el acarreador

---

<b>CNT</b>	Transportador de nucleósidos concentrativo
<b>CRT</b>	Transportador de Creatina
<b>DOPE</b>	Dioloil fosfatidil etanolamina
<b>DSPE</b>	Diestereoil fosfatidil etanolamina
<b>EAAT</b>	Transportador de aminoácidos excitadores
<b>EGF</b>	Factor de crecimiento epidermal
<b>EGFR</b>	Receptor del factor de crecimiento epidermal
<b>ENT</b>	Transportador de nucleósidos equilibrativo
<b>EPR</b>	Efecto de permeación y retención habilitada
<b>FA</b>	Ácido Fólico
<b>FGF</b>	Factor de crecimiento de fibroblastos
<b>FGFR1</b>	Receptor del factor de crecimiento de fibroblastos 1
<b>FHA</b>	$\alpha$ -hipolipoproteinemia familiar
<b>FR</b>	Receptor del ácido fólico
<b>GABA</b>	Ácido $\gamma$ -amino butírico
<b>GAT</b>	Transportador de GABA
<b>GDNF</b>	Factor neurotrófico derivado de las células gliales
<b>GLcNAc</b>	N-Acetil Glucosamina
<b>GLUT</b>	Transportador de Glucosa
<b>GLYT</b>	Transportador de Glicina
<b>GSL</b>	Glucoesfingolípidos
<b>HIRMAb</b>	Anticuerpo monoclonal dirigido al receptor de Insulina humano
<b>IL</b>	Interleucina
<b>ILGF</b>	Factor de crecimiento similar a la insulina
<b>ILGFR</b>	Receptor del factor de crecimiento similar a la insulina
<b>Kd</b>	Constante de disociación

---

---

<b>kDa</b>	KiloDalton
<b>LAT</b>	Transportador de aminoácidos grandes neutros
<b>LCT</b>	Leucotrieno
<b>LCR</b>	Líquido Cefalorraquídeo
<b>LDC</b>	Conjugado Lípido-Fármaco
<b>LDL</b>	Lipoproteínas de baja densidad
<b>LDLR</b>	Receptor de lipoproteínas de baja densidad
<b>LIF</b>	Factor inhibitorio de leucemia
<b>LUV</b>	Vesículas grandes unilamelares
<b>LRP</b>	Proteína relaciona al receptor de LDL
<b>LNC</b>	Nanocapsula lipídica
<b>MAb</b>	Anticuerpo monoclonal
<b>MAC</b>	Moléculas de adhesión celular
<b>MAI</b>	Moléculas de adhesión intercelular
<b>MAN</b>	p-aminofenil- $\alpha$ -D-manopiranosido
<b>MCT</b>	Transportador de monocarboxilatos
<b>MLV</b>	Vesículas multilamelares
<b>MMP</b>	Metaloproteinasas
<b>MNP</b>	Nanopartículas magnéticas
<b>MRP</b>	Proteína asociada a la resistencia de múltiples fármacos
<b>NBD</b>	Dominio de unión a nucleótido
<b>NET</b>	Transportador de norepinefrina
<b>NHS</b>	N-Hidroxisuccinimida
<b>NIR</b>	Infrarrojo cercano
<b>NTC</b>	Nanotubulos de carbón
<b>NPLS</b>	Nanopartículas lipídicas sólidas

---

---

<b>OAT</b>	Transportador de aniones orgánicos
<b>OATP</b>	Proteína transportadora de aniones orgánicos
<b>OCT</b>	Transportador de cationes orgánicos
<b>OCV</b>	Órganos Circumventrales
<b>PAMAM</b>	Poli(amidoamina)
<b>pDNA</b>	AND en plásmido
<b>PM</b>	Peso molecular
<b>PE</b>	Fosfatidiletanolamina
<b>PG</b>	Fosfatidilglicerol
<b>PDP</b>	3-(2-piridilditio) ácido propiónico
<b>PI</b>	Fosfatidil Inositol
<b>PA</b>	Ácido Fosfatídico
<b>PACA</b>	Poli(alquilcianoacrilato)
<b>PBCA</b>	Poli(butilcianoacrilato)
<b>PDGF</b>	Factor de crecimiento derivado de las plaquetas
<b>PLA</b>	Poli(ácido láctico)
<b>PGA</b>	Poli(ácido glicólico)
<b>PIT</b>	Temperatura de inversión de fases
<b>PDI</b>	Índice de polidispersión
<b>P-gp</b>	Glicoproteína P
<b>PKC</b>	Proteína Cinasas C
<b>PFIC</b>	Colestasis intrahepática familiar progresiva
<b>PL</b>	Fosfolípidos
<b>PC</b>	Fosfatidil colina
<b>PS</b>	Fosfatidil serina
<b>PET</b>	Tomografía por emisión de positrones

---

---

<b>PEG</b>	Polietilenglicol
<b>PEI</b>	Polietilenimina
<b>QD</b>	Puntos cuánticos
<b>RAM</b>	Reacciones adversas a la medicación
<b>RDS</b>	Síndrome de estrés respiratorio
<b>RM</b>	Resonancia Magnética
<b>RMT</b>	Transporte mediado por el receptor
<b>RMN</b>	Resonancia magnética nuclear
<b>ROS</b>	Especies de oxígeno reactivas
<b>S1P</b>	Esfingosina 1-Fosfato
<b>S1PR</b>	Receptor de Esfingosina 1-Fosfato
<b>SERT</b>	Transportador de Serotonina
<b>SK</b>	Esfingosina Cinasa
<b>SLC</b>	Superfamilia de acarreadores de solutos
<b>SM</b>	Esfingomielina
<b>SUV</b>	Vesículas unilamelares pequeñas
<b>SMF</b>	Sistema monocítico fagocitario
<b>SLN</b>	Nanopartículas lipídicas sólidas
<b>SPECT</b>	Tomografía por emisión de fotón único
<b>SPIONP</b>	Nanopartículas de óxido de hierro superparamagnético
<b>TAUT</b>	Transportador de taurina
<b>TC</b>	Tomografía computarizada
<b>TE</b>	Tiempo de efecto
<b>Tf</b>	Transferrina
<b>TfR</b>	receptor de transferrina
<b>TGF</b>	Factor de Crecimiento Transformante

---

<b>TNF</b>	Factor de necrosis tumoral
<b>TSP</b>	Trombospondina
<b>Tie</b>	Receptor de angiopoyetina
<b>VEGF</b>	Factor de crecimiento vascular endotelial
<b>VEGFR</b>	Receptor del factor de crecimiento endotelial vascular
<b>VIH</b>	Virus de Inmunodeficiencia humana
<b>VIP</b>	Péptido intestinal vasoactivo
<b>VLCFA</b>	Ácidos grasos de cadena muy corta
<b>X-ALD</b>	Adrenoleucodistrofia relacionada al cromosoma X
<b>ZO</b>	proteínas de Zónula Occludens

---

## DEDICO ESTA OBRA A....

Mi esposa Diana pues en nuestra vida, lo que empezó como un trámite se convirtió en algo tan importante y que nos diera tantas respuestas que ahora sólo es el inicio de un camino bien definido. Pero, es en tu amor y motivado por tu esfuerzo y lucha diaria que encuentro la fuerza para dar lo mejor de mí cada día. Gracias por acompañarme en cada desvelo, esfuerzo y alegría que ha traído este trabajo a mi vida.



---

AGRADEZCO A.....

Mi tutor, por su apoyo y sus valiosos consejos que me brindó para emprender este reto.

Mis padres, Francisco y Guadalupe, por haberme dado la oportunidad de conocer este mundo y por brindarme uno de los regalos más preciados para mí: una educación. Es necesario para mí agradecerles por su inmensa paciencia y por su amor constante.

Mi tío Memo pues aunque es poco común tener un amigo con 47 años de diferencia, tu amistad es uno de mis tesoros. Siempre estaré agradecido por ayudarme a ver las cosas de otra manera.

A la Universidad, ya que esta etapa ha marcado mi vida y me ha acercado a personas que son invaluable en mi camino.



---

---

## 1. INTRODUCCIÓN

El cerebro es un órgano delicado y muy complejo, al cual, la evolución se ha encargado de proveerlo de mecanismos muy eficientes para protegerlo. Pues este proceso se enfoca en preservar las características que representan una ventaja para una especie, como lo es la existencia de una barrera que protege al cerebro de las fluctuaciones sanguíneas, metabolitos tóxicos, infecciones, etc. Desafortunadamente, los mismos mecanismos que lo protegen pueden frustrar alguna intervención terapéutica. Hoy en día, aproximadamente el 100% de fármacos de elevado peso molecular (PM) son impermeables a la barrera hematoencefálica (BHE), incluyendo péptidos, proteínas recombinantes, anticuerpos monoclonales, oligonucleótidos antisentido, etc. y más del 98% de fármacos de PM bajo presentan la misma complicación (Bondi *et al.*, 2012; Meng *et al.*, 2010). Hoy en día, son pocas las enfermedades que pueden ser tratadas con estas moléculas de bajo PM; Entre ellas se encuentran: la depresión, desordenes afectivos, dolor crónico y epilepsia. Mientras que las enfermedades que no responden a este tipo de moléculas incluyen: Alzheimer, lesiones de cerebro y medula espinal, cáncer cerebral, infección de VIH en cerebro, accidentes cerebro-vasculares, esclerosis lateral amiotrófica, Parkinson, Huntington, esclerosis múltiple, así como alteraciones genéticas que afectan el correcto funcionamiento del cerebro (Pascual *et al.*, 2004).

Considerando lo anterior se han creado líneas de investigación con la finalidad de acceder al Sistema Nervioso Central (SNC). Estas líneas consideran varias estrategias, dentro de las cuáles se contemplan: Inyecciones intracerebrales, modificación química de las moléculas, abatimiento de la BHE, etc. (Meng *et al.*, 2010); técnicas que comprometen la seguridad del paciente y la eficacia de la terapia, por lo tanto no resultan muy convenientes.

---

Otra solución se ha encontrado al emplear los fármacos con eficacia terapéutica comprobada, enfocándose en los problemas individuales de cada partícula (biodisponibilidad, tiempo de vida media, etc.) y aprovechar los conocimientos acerca de la anatomofisiología del SNC.

La absorción en los capilares del SNC es diferente que en otros capilares del cuerpo debido a que las células endoteliales poseen: una alta cantidad de mitocondrias, ausencia de fenestraciones, mínima actividad de pinocitosis, así como la presencia de uniones densas, conformadas por las interacciones entre proteínas transmembranales (como la Claudina, la Ocludina y moléculas de adhesión celulares); estas condiciones junto con una elevada actividad de sistemas de eflujo (como la glicoproteína P) son los elementos restrictivos de la barrera hematoencefálica (BHE) (Kaur *et al.*, 2008).

La BHE además de mantener las condiciones químicas se encarga del suministro de nutrientes. Por lo tanto existe una elevada expresión de diversos receptores (como de Insulina, Transferrina, LDL, GLUT1, etc.) en las células endoteliales de los capilares cerebrales (Ying *et al.*, 2010). Aspecto sumamente importante para la vectorización de nanoacarreadores (Meng *et al.*, 2010). El empleo de estos transportadores para acceder al SNC se conoce como transporte mediado por el receptor (RMT, por sus siglas en inglés, Receptor Mediated Transport).

El empleo de la nanotecnología en el área farmacéutica para la producción de reservorios nanométricos funcionalizados se convierte en la pauta de investigación actual, con múltiples ventajas y aplicaciones terapéuticas. Estos reservorios deben tener la capacidad de transportar: fármacos hidrosolubles, liposolubles, proteínas e incluso genes y liberarlos sobre todo con un control espacial. Estos nanoacarreadores pueden contener múltiples elementos de dirección que permitan incrementar su concentración en un sitio deseado. De igual manera pueden contener en su superficie elementos con propiedades ópticas que permiten monitorear en tiempo real y

---

---

de manera no invasiva la ruta farmacocinética de una NP, delimitar el área de un tumor, etcétera (Ying *et al.*, 2012).

En este trabajo se explican las estrategias empleadas en tecnología farmacéutica, con dimensiones nanométricas, destinadas a establecer un régimen terapéutico accediendo al SNC. Para ello es importante puntualizar los factores involucrados en que se genere un efecto biológico a partir de la administración de un xenobiótico (cualquier sustancia ajena al organismo).

También será muy importante hacer hincapié en que las propiedades de absorción y distribución cambian de manera considerable cuando se modifica el tamaño de partícula. Y esto conlleva a un nuevo proceso de redistribución de efecto considerable. Un ejemplo lo representan las NP de Ti, Si y Au que ingresan al SNC por mecanismos desconocidos y se acumulan en hipotálamo, tálamo, hipocampo y corteza cerebral (Masserini, 2013). A la vez NP de Cu, Ag, Al, SiO<sub>2</sub> y MnO<sub>2</sub> han demostrado abatir la BHE, incrementar la concentración de aminoácidos excitadores (Aspartato y Glutamato) y disminuir la de aminoácidos depresores (Glicina y GABA) en corteza cerebral, hipocampo y cerebelo. Resultando un mayor daño de los tejidos con las NP de Ag e inversamente proporcional al tamaño, es decir, las NP más pequeñas generaron un mayor daño (Sharma, H.S., 2013). De igual manera se modifican las características tóxicas, como sucede en el caso de las NP de Plata en cultivos de macrófagos, donde se presentan efectos citotóxicos y estrés oxidativo (Luther *et al.*, 2011). Así como recordar las propiedades toxicológicas de los polímeros, surfactantes y disolventes empleados en la producción de las nanopartículas.

Los alcances de esta tecnología farmacéutica son impactantes y de gran diversidad. Uno puede fabricar nanopartículas de quítosán (tiene propiedades mucoadhesivas, con un tamaño de

---

---

partícula adecuado) que habilitan la vía intranasal, lo cual permite una buena absorción al cerebro (Haque *et al.*, 2011, Patel *et al.*, 2011), o también podemos emplear nanopartículas con propiedades magnéticas que permitan una acumulación vía efecto de un campo magnético externo y con la posibilidad de monitorearlas vía resonancia magnética en tiempo real (Ying *et al.*, 2012). Inclusive se han desarrollado nanopartículas lipídicas sólidas (NPLS) catiónicas que se pueden emplear como vectores de transfección no-virales en terapias génicas (Bondi *et al.*, 2007). O emplear estos acarreadores para comprobar el efecto de sustancias con efectos sospechados pero con una muy pobre absorción o un tiempo de vida media muy corto. Dentro de este grupo de experimentos encontramos los relacionados con la baicalina, flavonoide encontrado en la raíz de la *Scutellaria spp.* con poderosos efectos anti-inflamatorios y anti-oxidantes que ha demostrado ser eficaz en casos de isquemia, daño celular originado por la proteína  $\beta$ -amiloide, estrés oxidativo y excitotoxicidad (Tsai *et al.*, 2012). También existen diversos estudios que emplean a la curcumina (polifenol extraído de *Curcuma longa* con considerables efectos anti-inflamatorios, anti-oxidantes y anti-cancerígenos), formulada en acarreadores lipídicos nanoestructurados (NLC), esto la convierte en un potencial agente antineoplásico y neuroprotector (Bondi *et al.*, 2012).

La posibilidad de emplear distintos tipos de nanopartículas, de tamaño variable, con distintas características superficiales y empleando diferentes elementos de dirección y, que éstas características modifiquen la farmacocinética y otras propiedades de la NP, nos indica la importancia que tiene la relación entre la etiopatogénesis de determinada enfermedad con la producción de un acarreador con las características adecuadas.

---

## 2. OBJETIVO

- A través de una revisión biblio-hemerográfica, recopilar información relacionada con nanopartículas destinadas a atravesar la BHE; clasificarlas, describir sus aplicaciones y denotar su impacto en el área clínica.

### 2.1 OBJETIVOS PARTICULARES

- Denotar cuáles son las diferencias entre las formulaciones convencionales y las formulaciones nanoparticuladas.
- Resaltar el impacto que tiene el empleo de esta tecnología farmacéutica y la diversidad de sus aplicaciones.
- Describir los factores que permiten la vectorización de las NP.
- Establecer una relación entre la etiopatogénesis y el diseño racional de nanoreservorios.

## 3. GENERALIDADES

Para comprender las bases del empleo de agentes terapéuticos necesitamos entender que existen factores que pueden modificar el efecto biológico. Existen factores concernientes a la sustancia, otros relacionados con el individuo y también algunos factores del ambiente. Acerca de la sustancia necesitamos saber que para que una sustancia fluya a través de las distintas membranas celulares (estómago, intestino, capilares sanguíneos) existen ciertas restricciones de peso molecular, grado de ionización y liposolubilidad (una molécula de bajo peso molecular, no ionizada y con buena liposolubilidad se absorberá de manera eficiente). Para que una sustancia llegue a su sitio de acción debe atravesar diversas barreras biológicas y en el caso de SNC se encuentra además la barrera hematoencefálica (BHE), esta se describirá más adelante. Cuando el principio activo se encuentra disponible en su sitio de acción a una concentración adecuada, lo que se necesita para que se genere un efecto biológico es la interacción del principio con su

---

---

receptor y que este tenga actividad intrínseca. En el SNC los sitios predominantes de acción de los medicamentos son los botones sinápticos y es de gran importancia recordar que la densidad celular y de receptores se ve modificada constantemente por fenómenos de plasticidad y esto es aún más importante en sujetos con alguna lesión cerebral (Brailowsky *et al.*, 2004). Esto último podría incluirse en los factores vinculados al individuo. También afectará su constitución genética dada la expresión de proteínas (receptores, enzimas, proteínas transportadoras, etc.) y esto determinará las variaciones de la sensibilidad a cada sustancia, su metabolismo y efecto entre diferentes individuos de la población. También es importante el reconocimiento de la influencia que tiene el ciclo circadiano, las hormonas sexuales o los estados tensionales como el estrés sobre el efecto de diversos medicamentos. Para puntualizar los factores vinculados con el individuo es importante mencionar la postura psicosocial que mantiene el paciente ante un tratamiento. Considerando que se debe buscar siempre la resiliencia (actitud positiva y confiada ante un evento médico o tratamiento). El ejemplo más claro de la influencia mental sobre la respuesta biológica a una sustancia lo aporta el efecto *placebo*. Se han encontrado vías de comunicación entre el sistema nervioso, el sistema inmunitario y sistema endócrino; A esto se le denomina neuroinmunomodulación y será cada vez más importante conforme crezca nuestro entendimiento de los procesos corporales en la salud y en diversas enfermedades (Hernández *et al.*, 2007 y 2008).

También es importante resaltar que existen factores del entorno, que se pueden atribuir a ciertas condiciones sociales como pueden ser: malnutrición, desnutrición (se considera como factor del entorno porque existen zonas geográficas con notada desnutrición y zonas geográficas con dietas hipercalóricas), el aislamiento social también tiene serias repercusiones en una recuperación (Brailowsky *et al.*, 2004).

---

---

De gran importancia es hoy en día el conocimiento de las sustancias tóxicas a las cuáles estamos potencialmente expuestos todos los días, como: aditivos y conservadores en alimentos procesados, plaguicidas y pesticidas en alimentos frescos, mercurio, plomo, aluminio, flúor y otras sustancias reconocidas como tóxicas (Nava-Ruíz *et al.*,2011; Ortega *et al.*,2005).

### 3.1 Generalidades sobre administración de medicamentos

Es de gran importancia denotar que muchos procesos sobretodo de farmacocinética se modifican con el empleo de nanopartículas.

Existen dos tipos de estudios empleados para conocer las diferentes propiedades de un fármaco; éstos nos hablan acerca de: el grado en el que un fármaco penetra nuestro cuerpo, qué tan rápido se alcanza un equilibrio (concentración máxima; la velocidad de ingreso al plasma es igual a la de eliminación), a qué velocidad se excreta del cuerpo y qué cambios biológicos genera en el mismo. Por esta razón se consideran estas propiedades en el trabajo; puesto que la principal problemática que presenta establecer una terapia segura y eficaz se explica mediante la farmacocinética (biodisponibilidad, volumen de distribución, tiempo de vida media) o la farmacodinámica (ineficacia o toxicidad) del medicamento (Barret *et al.*, 2012).

#### 3.1.1 Farmacocinética: ingreso y distribución de un fármaco en el organismo

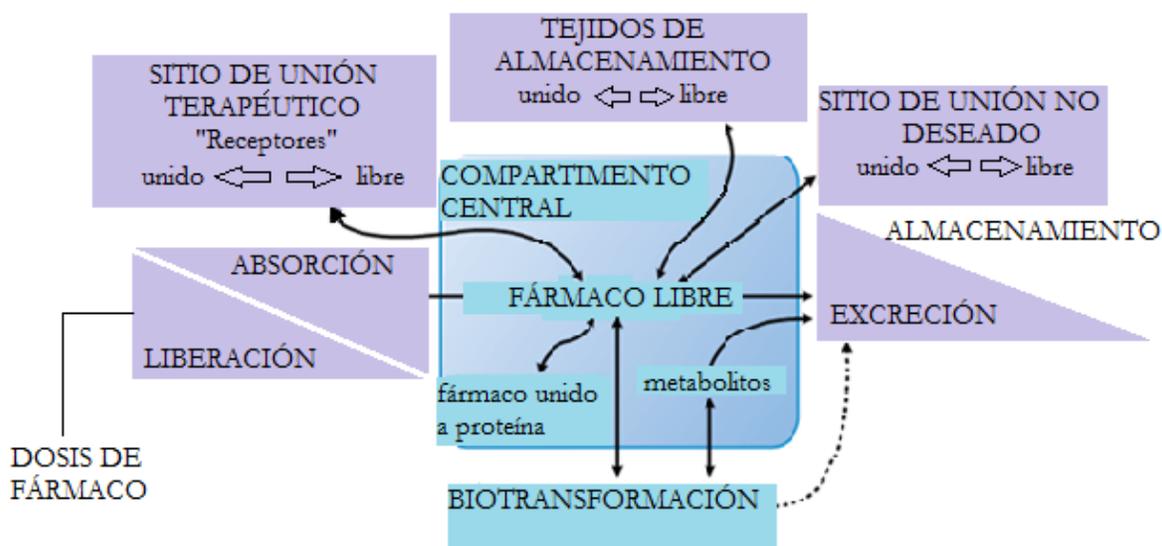
En este subcapítulo se trata de manera superficial los procesos de biotransformación y eliminación; Considerándose de mayor importancia, para nuestro estudio, los procesos farmacocinéticos de absorción y distribución.

La farmacocinética consiste en determinar la concentración del fármaco en los diferentes tejidos del organismo, así como los cambios de ésta, en función del tiempo, y calcular los parámetros y constantes que describen su comportamiento. Observaremos la farmacocinética de

la vía de administración oral, ya que es la más ilustrativa en cuanto a las complicaciones que se presentan (biodisponibilidad, efecto de primer paso, etc.).

El entendimiento y la correcta aplicación de los principios farmacocinéticos permitirán incrementar la probabilidad de una terapia exitosa y disminuir la ocurrencia de Reacciones Adversas a la Medicación (RAM). El siguiente esquema ilustra la estrecha relación que existe entre los procesos farmacocinéticos y la concentración en su sitio de acción.

**Figura 1.** Distribución de un fármaco en el organismo. Se requiere la liberación del fármaco a partir del medicamento para su posterior absorción estomacal o intestinal. Observamos cinco destinos a partir del compartimento central (circulación sanguínea): a) unión a receptores en el sitio de acción, b) depósito en distintos tejidos, c) unión a un sitio no deseado, d) biotransformación del fármaco y e) su excreción. Recuperado y modificado de: <http://www.fetoc.es/toxicologianet/graphics/t04fig02.gif>



Existen algunas diferencias farmacocinéticas entre las distintas vías de administración (oral, intramuscular, intratecal, subdérmica, inhalatoria, sublingual, rectal, etc.) pero el objetivo

---

---

principal de todas estas vías es que la sustancia activa se encuentre disponible en su sitio de acción el tiempo necesario para ejercer un efecto terapéutico (Brunton *et al.*, 2007).

Algunas vías tienen procesos de absorción (ingreso del fármaco al torrente sanguíneo), otras (como la intravenosa o intra- arterial) disponen al principio directamente al torrente sanguíneo, y posteriormente, todo fármaco administrado es excretado por los diferentes sistemas que posee nuestro cuerpo (metabolismo hepático, conjugación, filtración glomerular, secreción tubular, etc.). Por lo tanto, consideraremos solamente la vía de administración oral en esta sección ya que se considera la más ilustrativa para el fin.

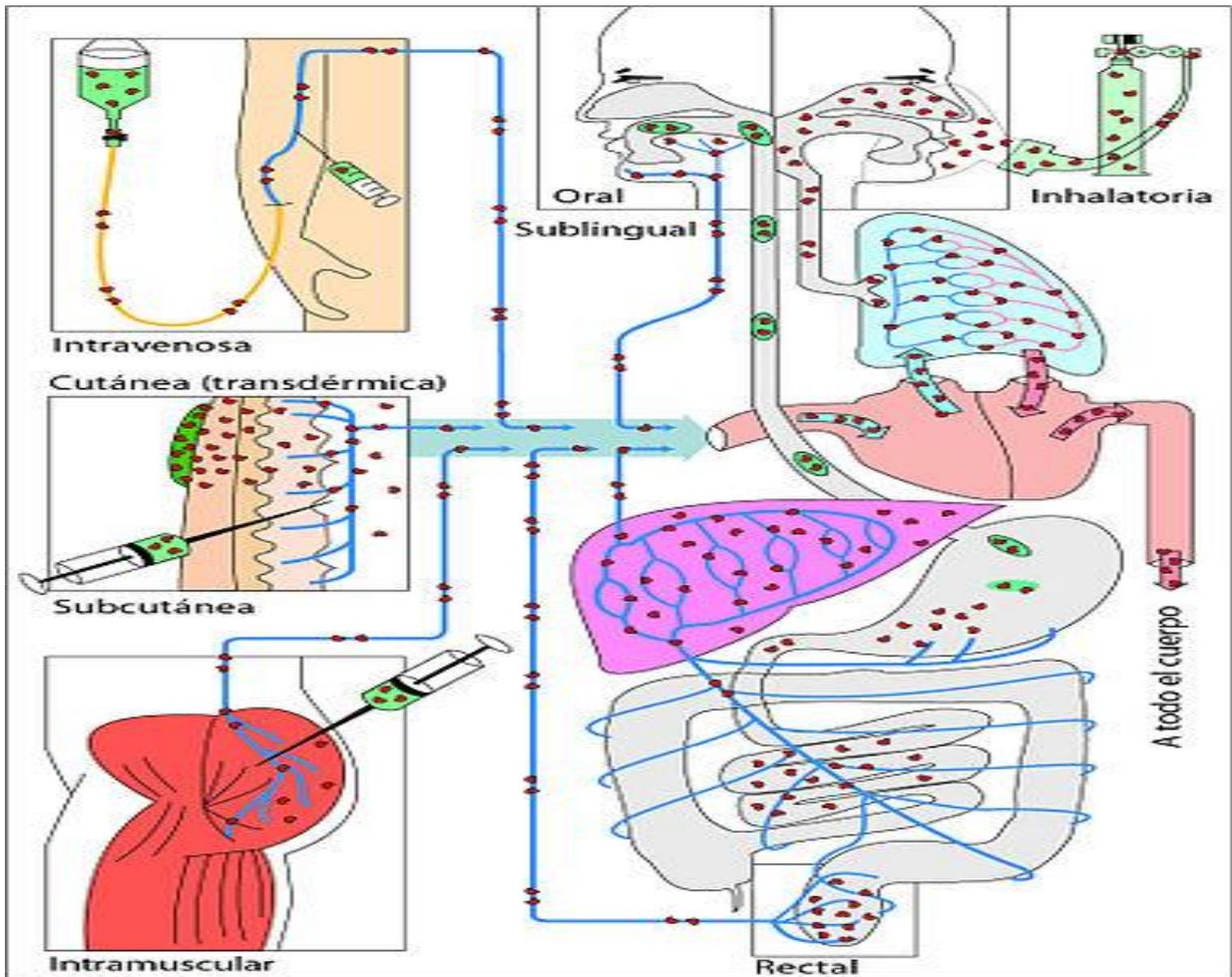
La administración directamente al torrente sanguíneo conlleva una suma de complicaciones (imposibilidad de autoadministración, formación de abscesos, posibilidad de infecciones, imposibilidad de retirar el medicamento en caso de presentarse un efecto no deseado [v.gr. uso de carbono activado en intoxicaciones estomacales], etc.); también por lo previamente citado el presente trabajo pretende enfocar los estudios a la vía de administración oral ya que se considera ser de mayor comodidad para el paciente; lo que implicaría una mayor adhesión terapéutica.

La absorción y la distribución son los procesos mediante los cuales un principio quedará expuesto a su sitio de acción donde ejercerá su efecto farmacológico que conlleva un beneficio terapéutico; no debemos olvidar que la distribución indiscriminada del fármaco genera efectos adversos (*v.gr.* fármacos antineoplásicos). La absorción puede entenderse como el ingreso de un fármaco al torrente sanguíneo; esta absorción puede ser estomacal o intestinal (dependerá de las propiedades físicas y químicas del activo [*v.gr.* hidrosolubilidad, capacidad de ionizarse a un pH determinado, peso molecular, etc.]). Mientras tanto, solo se dirá que absorción es el paso

de una sustancia a través de una barrera, más adelante (Generalidades de BHE) se expondrán los mecanismos por los cuáles sucede y la influencia del medio sobre este proceso.

Después de una administración oral, se presenta el efecto llamado de primer paso. Entendido como la fracción de dosis oral absorbida y metabolizada en hígado instantáneamente donde sufre reacciones de oxidación, reducción e hidrólisis denominadas biotransformación.

**Figura 2.** Representación de las diferentes vías de administración; la relación entre la vía de administración, la zona de absorción y el efecto de primer paso hepático. Recuperado de: <http://farmacologiauniversidadromulogallegos.blogspot.mx/>

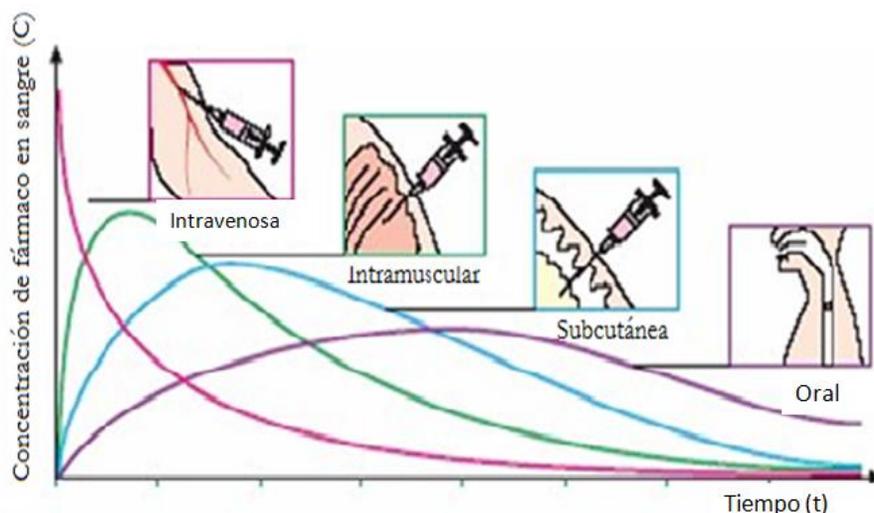


---

De acuerdo con lo anterior, una fracción de la dosis administrada vía oral será biotransformada y eliminada antes de llegar a circulación sanguínea (Brunton *et al.*, 2007).

El siguiente esquema ilustra los cambios de concentración en función del tiempo para distintas vías de administración.

**Figura 3.** Comparación entre las concentraciones plasmáticas obtenidas tras la administración de un fármaco empleando diferentes vías. Podemos distinguir que la vía de administración oral posee un área bajo la curva (AUC) relativamente menor y un proceso de absorción más prolongado para obtener una concentración máxima ( $C_{max}$ ) en un tiempo mayor. Recuperado y modificado de: [http://www.portalesmedicos.com/images/publicaciones/1007administracion\\_farmacos/concentracion\\_plasmatica.jpg](http://www.portalesmedicos.com/images/publicaciones/1007administracion_farmacos/concentracion_plasmatica.jpg)

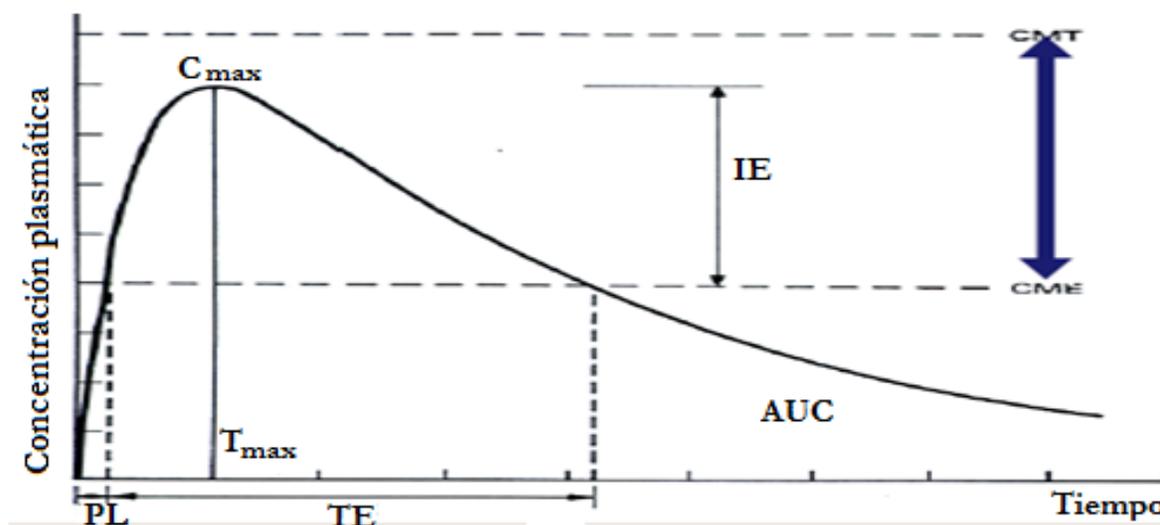


Otra complicación importante puede presentarse si no se considera la estabilidad del principio en medios ácidos, como son las condiciones gástricas. Algunos fármacos presentan problemas de estabilidad a pH's ácidos o por susceptibilidad enzimática (la bencilpenicilina y la insulina, respectivamente).

Una solución empleada fue el recubrimiento de las formas farmacéuticas para proteger al activo de las condiciones gástricas y que posteriormente al ingresar a intestino se libere el contenido. A los sistemas que liberan el fármaco dependiendo las condiciones del medio o a una velocidad determinada se les conoce como sistemas de liberación controlada, es decir, que posean la capacidad de liberación selectiva: espacial o temporal (De la Cruz, 2010).

En este sentido las NP representan el modo ulterior de estos sistemas. Puesto que la vectorización representa una liberación espacial aún más específica.

**Figura 4.** Gráfica de concentraciones plasmáticas tras la administración de un fármaco vía oral; Observamos la descripción gráfica de los distintos parámetros farmacocinéticos, como  $C_{max}$ ,  $T_{max}$ , periodo de latencia (PL), tiempo de efecto (TE), Área bajo la curva (AUC), Concentración media Tóxica (CMT) y Concentración media efectiva (CME), Intervalo de eficacia terapéutica (IE). Recuperado y modificado de: <http://www.medwave.cl/medios/2007/nayo/CursoFarmaco/Farmaco2Fig1.jpg>



En los estudios farmacocinéticos los parámetros obtenidos son los siguientes: constante de absorción, concentración máxima del fármaco en plasma, tiempo al cual se alcanza la

---

---

concentración máxima, constante de eliminación, tiempo de latencia para inicio del efecto, concentración mínima efectiva, tiempo de duración del efecto, volumen de distribución aparente, aclaramiento renal, biodisponibilidad (se consideran los niveles sanguíneos obtenidos tras una administración intravenosa como el 100% y se compara con otras vías de administración o también se pueden comparar diferentes formulaciones [pruebas de bioequivalencia]).

La distribución comprende desde el ingreso del fármaco a circulación y su posterior diseminación en el líquido intersticial y el líquido intracelular. Este proceso se puede considerar la suma de múltiples factores fisiológicos y las propiedades fisicoquímicas del fármaco en cuestión. Inicialmente, los órganos con una mayor perfusión (flujo de sangre) alcanzan altas concentraciones de manera rápida. Otros tejidos como vísceras, músculos y piel tardan más en llegar a un equilibrio, y puede llegar a tardar varias horas. La distribución del fármaco en los tejidos depende principalmente del coeficiente de partición octanol: agua (parámetro indicativo de la liposolubilidad del fármaco; valores mayores a 1 indican mayor afinidad por la fase orgánica; valores entre 1.5 y 2.5 indican que la sustancia será bien absorbida). Otro factor muy importante a considerar cuando se habla de distribución es la unión de fármacos a proteínas circulantes en la sangre, ya que la fracción de fármaco no asociado, es la fracción de fármaco activa; esta molécula tiene la capacidad de unirse a su receptor y generar un efecto biológico. Es muy relevante mencionar que un ligero cambio en la unión a proteínas plasmáticas, como lo representaría una interacción farmacológica a nivel distribución, puede incrementar significativamente la concentración de fármaco libre y por lo tanto, la posibilidad de llegar a concentraciones tóxicas. Las principales proteínas a las que se unen los fármacos en circulación sanguínea son: a) Albúmina (se unen fármacos ácidos) y b)  $\alpha$ -1 Glicoproteína ácida (se unen fármacos básicos). Los fármacos, además de poderse unir a ciertas proteínas plasmáticas

---

---

también pueden unirse a algunos tejidos o inclusive algunos fármacos altamente liposolubles pueden depositarse en tejido adiposo y otros en hueso (Brunton, *et al.*, 2007). La distribución de fármacos al cerebro se dificulta por las múltiples barreras y sistemas de eflujo, que tiene el cerebro, que impiden el ingreso indiscriminado de sustancias provenientes del torrente sanguíneo. La característica principal de impermeabilidad de las células endoteliales de los capilares sanguíneos (CECSC) la confieren uniones densas entre las células, formadas debido a la expresión de algunas proteínas transmembranales (claudinas, ocludinas, etc.) y la influencia de los pies astrocitarios (célula especializada del sistema nervioso, más adelante se hablará de su función y localización) que envuelven los capilares (en el capítulo 3.2 se estudiará la estructura de las CECSC y las demás barreras entre la sangre y el líquido cefalorraquídeo).

Posteriormente a su distribución, el principio activo sufre reacciones enzimáticas para convertirse en una especie química más hidrosoluble, la cuál pueda ser excretada eficientemente mediante: a) filtración glomerular, b) secreción tubular, c) secreción hepato-biliar. Para los fines didácticos del trabajo solo se mencionará lo anterior de farmacocinética. Pues basta para comprender las diferencias entre la farmacocinética de una formulación convencional y una con nanopartículas.

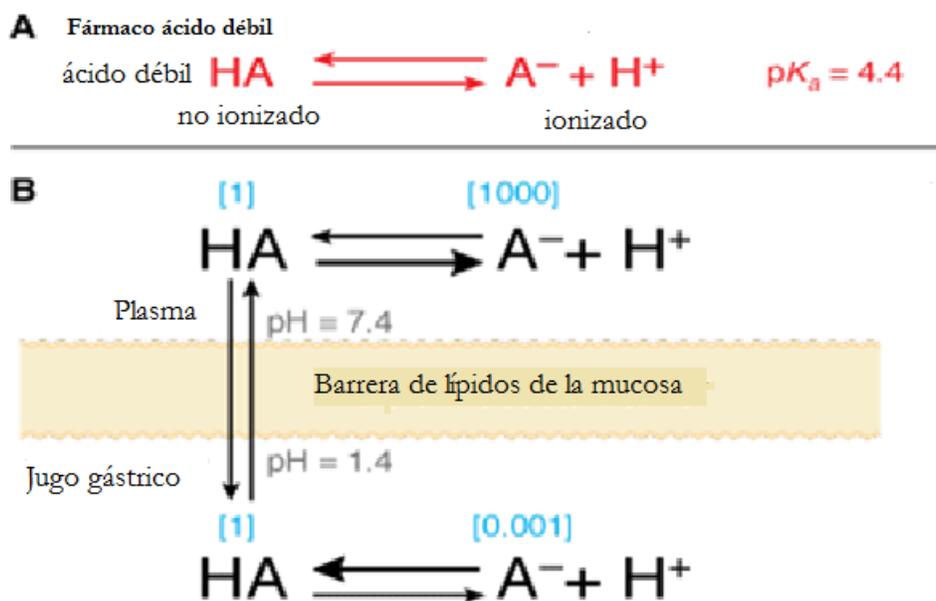
#### 3.1.1.1 Influencia del pH sobre la absorción de fármacos

La mayoría de los fármacos son ácidos débiles y gran cantidad de ellos son bases débiles, lo que nos indica que encontraremos variaciones en la proporción de especies ionizadas y no ionizadas a lo largo de la distribución del fármaco en el cuerpo; desde el estómago, pasando por intestino y luego al plasma, encontramos pH's de 1.4, 8 y 7.4, respetivamente y esto influirá en los equilibrios de disociación de ácidos, base y en la concentración de los diferentes especies

(como se observa en la figura 5). Recordemos que el fármaco no ionizado es más liposoluble y tiene mayores posibilidades de penetrar la bicapa lipídica (Nelson y Cox, 2005).

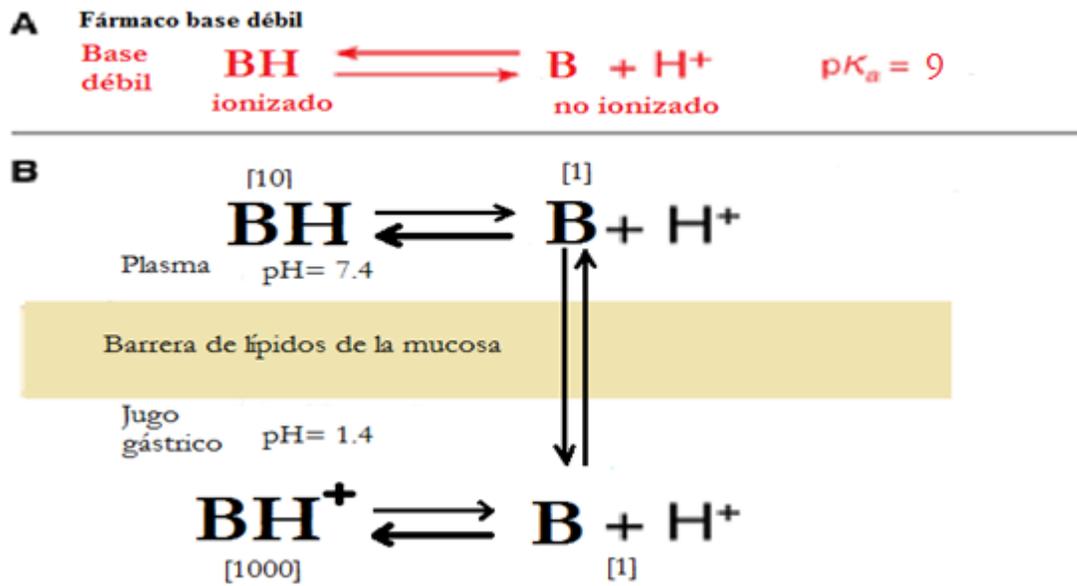
**Figura 5.** Influencia del pH sobre la absorción de un fármaco ácido, el equilibrio de disociación de un fármaco ácido débil y las consecuencias sobre su buena absorción gástrica.

A) Equilibrio de disociación de un ácido débil. B) El ácido débil se encuentra principalmente en su fase no ionizada a pH gástrico, esto favorece su absorción Recuperado y modificado de: [http://images.slideplayer.es/3/1048230/slides/slide\\_5.jpg](http://images.slideplayer.es/3/1048230/slides/slide_5.jpg).



Como se puede contemplar, cuando el pH no favorece la ionización del principio, aumenta considerablemente la absorción del mismo. De manera análoga sucede con fármacos básicos en el tracto intestinal; a pH básico predomina la especie no ionizada y, por lo tanto, se puede absorber (Brunton, *et al.*, 2007). Pero a pH estomacal predomina la especie ionizada y por lo tanto, las bases presentan una mala o nula absorción estomacal.

**Figura 6.** Influencia del pH sobre la carga de un fármaco básico y las consecuencias sobre su pobre absorción gástrica. Los fármacos que son bases débiles se encuentran en su fase ionizada a pH gástrico, esto hace que las bases débiles no se absorban por difusión pasiva en el estómago (sólo se podría presentar mediante por transporte activo). Recuperado y modificado de: [http://images.slideplayer.es/3/1048230/slides/slide\\_5.jpg](http://images.slideplayer.es/3/1048230/slides/slide_5.jpg)



El punto anterior representa una ventaja para los sistemas nanoparticulados, ya que ofrecen protección contra la degradación por efecto de pH. Además de que elimina la influencia del pH sobre el proceso de absorción.

### 3.1.1.2 Distribución y Transportadores de membrana

Los transportadores son las proteínas membranales que controlan el ingreso de iones y nutrientes, y también controlan el flujo de moléculas del metabolismo celular, toxinas, fármacos y demás sustancias xenobióticas (compuestos ajenos al cuerpo, que generan un cambio bioquímico). Alrededor del 7 % de los genes humanos codifican para proteínas transportadoras o relacionadas a los transportadores; esta fracción representa cerca de 2000

---

---

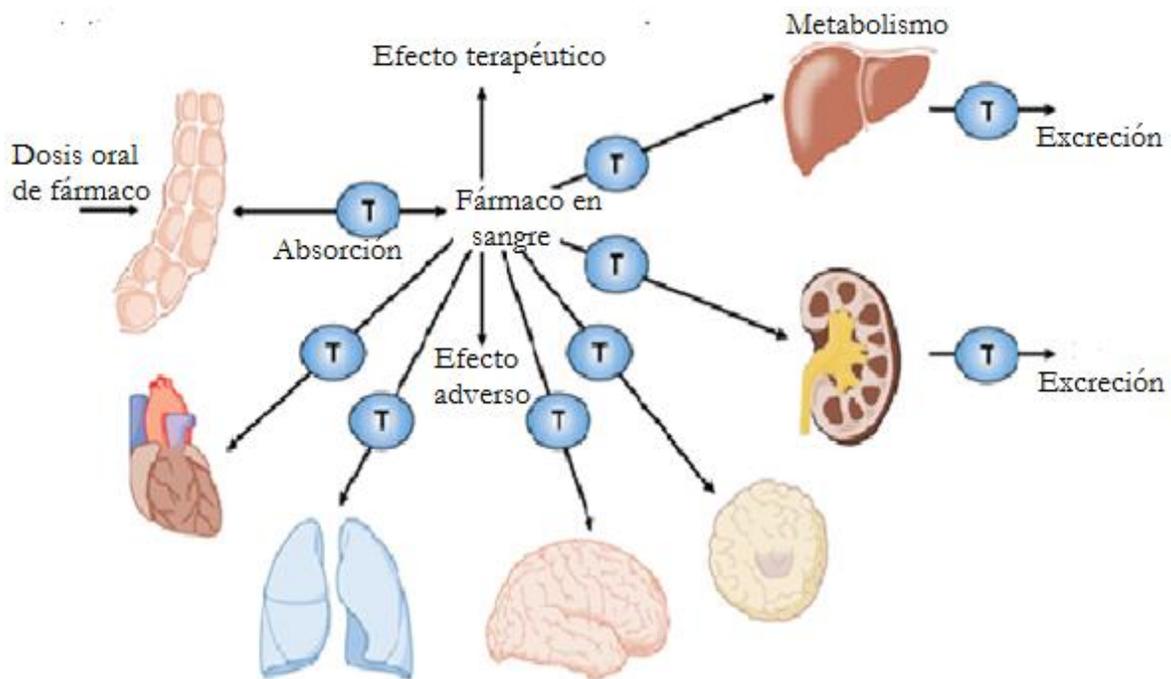
genes, que tienen implicaciones críticas en la homeostasis (mantenimiento de condiciones adecuadas para la vida) (Barret *et al.*, 2012).

Para fines farmacológicos nos enfocaremos en los transportadores pertenecientes a dos superfamilias de transportadores: a) los que poseen un dominio de unión al ATP; y b) los acarreadores de soluto; se les denominará a estas familias ABC y SLC respectivamente, por sus siglas en inglés (ATP binding cassette y Solute carrier transporters).

La mayoría de las proteínas ABC son transportadores activos primarios, los cuales fundamentan su acción en la hidrólisis de ATP para la obtención de energía. Existen 49 genes que codifican para proteínas tipo ABC, y éstas se pueden dividir en 7 subfamilias, denotadas por letras mayúsculas (ABCA, ABCB, etc.). Dentro de los transportadores ABC más conocidos se encuentra la glicoproteína-P, de la cual se profundizará al hablar de la BHE.

La superfamilia SLC incluye los genes que codifican para transportadores de difusión facilitada. 48 familias que comprenden alrededor de 315 transportadores. Algunos transportadores pertenecientes a esta superfamilia son el transportador de serotonina y el de dopamina (Brunton, *et al.*, 2007). Algunos de estos canales han servido en investigación para emplearse como blanco de fármacos o auxiliar en el ingreso a un sitio específico.

**Figura 7.** Relación entre la expresión de proteínas transportadoras en determinados tejidos y la distribución de un fármaco. Recuperado y modificado de: <http://1.bp.blogspot.com/-bXYJElowiqc/T-dQ5lyYdHI/AAAAAAAAAE4/Dug1XD2PMQk/s1600/gp-P++comparaci%25C3%25B3n.jpg>



Como observamos en la figura 7, la distribución del fármaco está íntimamente relacionado con su interacción con diferentes proteínas transportadoras. Existen tres tipos de implicaciones de las proteínas transportadoras sobre la respuesta terapéutica, éstas son: a) farmacocinéticas, b) farmacodinámicas y c) de resistencia (Nelson y Cox, 2005).

Se puede considerar que tienen una implicación en la farmacocinética de la terapia debido a que la expresión de transportadores en determinados tejidos es lo que propicia su ingreso. Como se mencionó están implicadas en procesos de absorción, principalmente en células del intestino, del riñón y BHE. También pueden actuar en conjunto con enzimas, como sucede en el caso de los hepatocitos (células hepáticas).

---

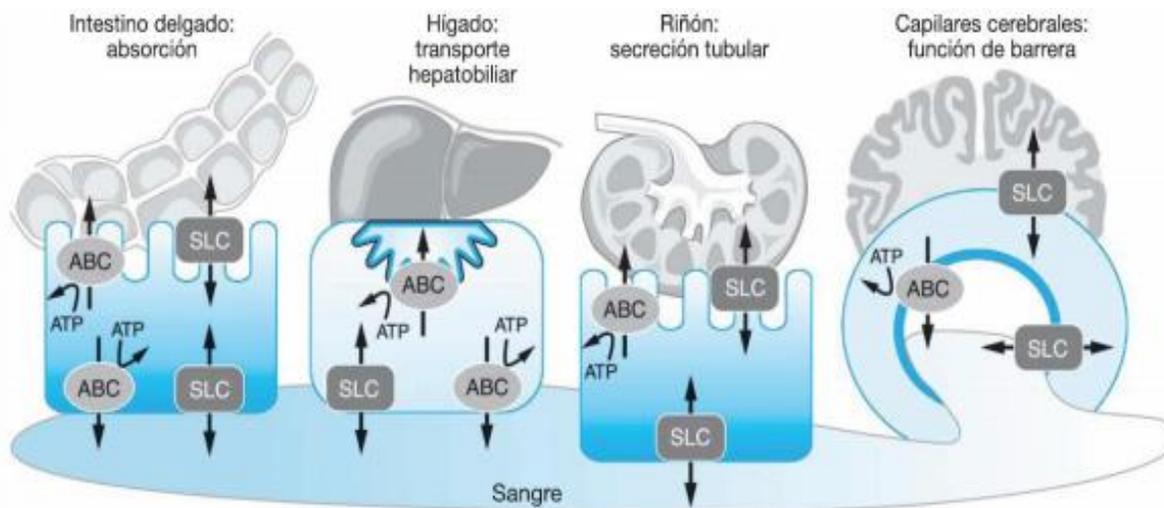
Un transportador también puede servir para limitar el ingreso de sustancias a un tejido, como es el caso de la glicoproteína- P, expresada en CECSC. En donde las uniones densas entre las CECSC y la expresión de la glicoproteína-P impide el ingreso de muchas sustancias presentes en sangre. Muchos de los transportadores que son relevantes en la respuesta terapéutica están implicados tanto en la absorción, como en la distribución y eliminación de los fármacos.

Conforme se ha adquirido una mayor comprensión de la etiopatogénesis (razón específica de una enfermedad) de muchas enfermedades, se ha investigado sobre la función de algunos recaptadores, cuya acción se ve alterada en alguna enfermedad (*v.gr.* para el tratamiento de la depresión, desordenes afectivo, Alzheimer, Parkinson). Los transportadores no neuronales también de importancia clínica, como el de glucosa para el tratamiento de diabéticos, transportadores de colesterol en problemas cardiacos, etcétera.

Entonces, los transportadores de ingreso y de egreso determinan los niveles tisulares y de plasma de compuestos endógenos y de xenobióticos y por lo tanto pueden influenciar en la toxicidad sistémica o específica de un fármaco.

Se desea solamente indicar que como cualquier proceso que implica una macromolécula, se presenta un proceso saturable.

**Figura 8.** Expresión de las dos superfamilias de transportadores en algunos órganos. Recuperado y modificado de: [http://www.fmed.uba.ar/depto/toxico1/glico\\_p.pdf](http://www.fmed.uba.ar/depto/toxico1/glico_p.pdf)



Como se puede observar en la figura 8, en el cerebro se expresan transportadores de ambas familias, ABC y SLC; pero los transportadores ABC tienen un flujo unidireccional, en cambio los transportadores de la familia SLC median un transporte bidireccional generalmente impulsado por un gradiente electroquímico.

Aparte de mencionar la localización de los transportadores que tienen una implicación directa o indirecta con la eficacia de una terapia farmacológica, es importante considerar los transportadores implicados en la recaptación de neurotransmisores. Estos transportadores pertenecen a las superfamilias de transportadores SLC1 y SLC6. Los transportadores dentro de estas familias toman papeles cruciales en la recaptación de ácido  $\gamma$ -amino butírico (GABA), glutamato, norepinefrina, serotonina y dopamina. Los miembros de la familia SLC6 incluyen los transportadores de norepinefrina (SLC6A2), el transportador de dopamina (SLC6A3), el de serotonina (SLC6A4) y algunos transportadores recaptadores de GABA (GAT1, GAT2 y GAT3).

---

---

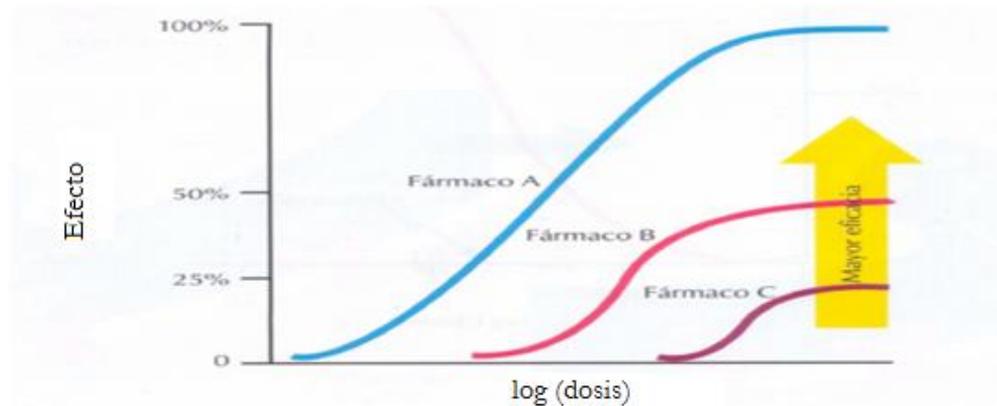
Estos transportadores han sido estudiados para ser empleados como posibles blancos en el tratamiento de algunas enfermedades (Barret *et al.* 2012).

### 3.1.2 Farmacodinamia

Farmacodinamia comprende el estudio del efecto bioquímico y fisiológico tras la administración de un fármaco, así como su mecanismo de acción. Un claro entendimiento de los procesos farmacodinámicos puede ayudar a establecer un régimen terapéutico seguro y racional; la mayoría de los efectos tóxicos o efectos adversos pueden ser prevenidos o explicados considerando la farmacodinamia de las moléculas. Para entender la innovación que representa el empleo de nanopartículas en formas farmacéuticas, estudiaremos los términos de eficacia, potencia y seguridad terapéutica.

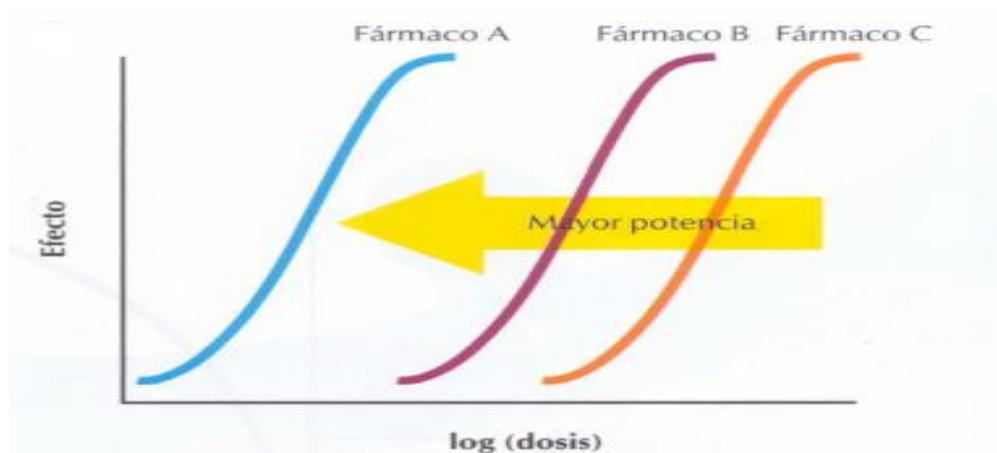
La eficacia terapéutica se refiere a medir una respuesta biológica en función de la dosis; cómo el efecto es producido por la ocupación de un receptor, la saturación de los receptores conlleva al efecto máximo. Aunque distintas sustancias producen efectos de intensidad diferente (como se muestra en la figura 9) y a diferentes dosis (como se muestra en la figura 10).

**Figura 9.** Curva Dosis-Respuesta. En este esquema podemos denotar el porcentaje de efecto de tres fármacos distintos. Donde el fármaco A tiene una mayor eficacia al mostrar un efecto farmacológico cercano al 100%. Recuperado y modificado de: <https://noesme.wordpress.com/>



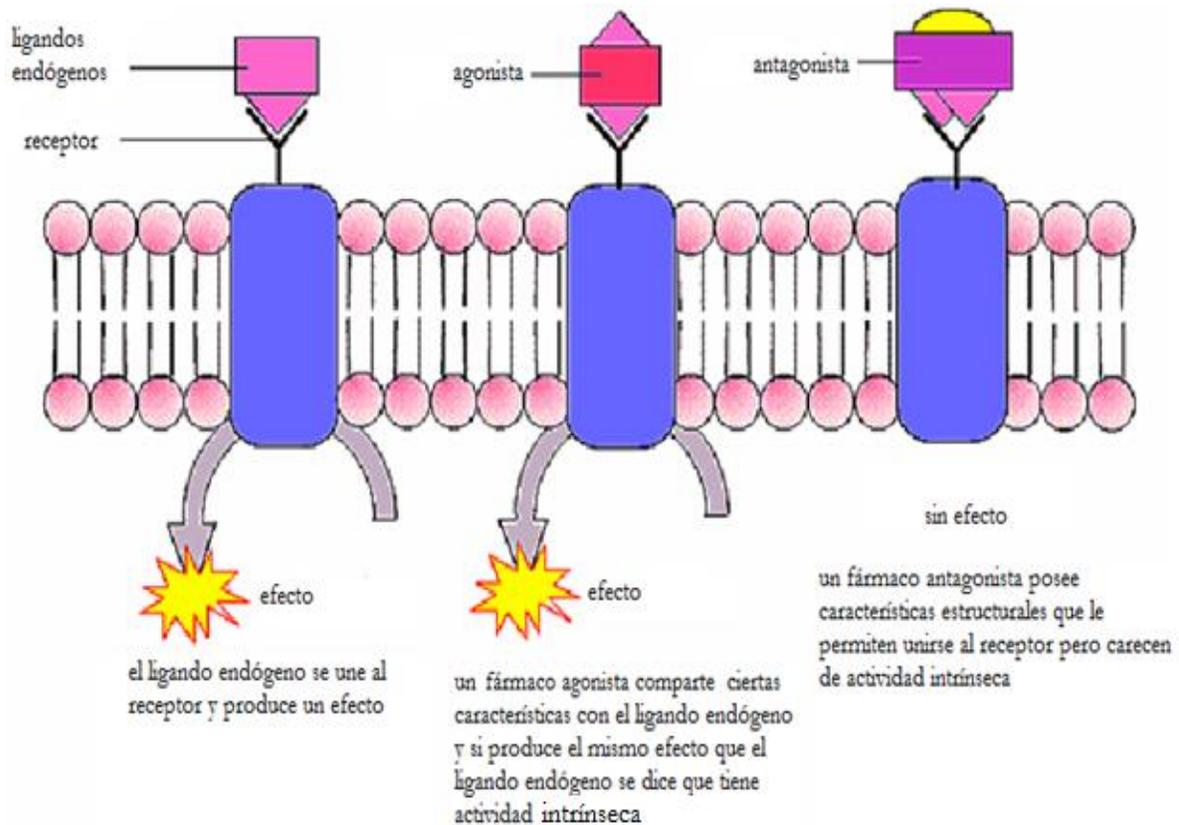
La potencia de un medicamento hace referencia a la cantidad mínima de dosis que se requiere para generar un efecto terapéutico; por lo tanto, un fármaco más potente es aquél que genera un efecto biológico a una menor dosis, como se muestra en la **figura 10**.

**Figura 10.** Curva Dosis-Respuesta. Potencia de un fármaco. En este esquema denotamos que el fármaco más potente es el fármaco A; debido a que a una menor concentración se ejerce un efecto farmacológico. Recuperado y modificado de: <https://noesme.wordpress.com/>



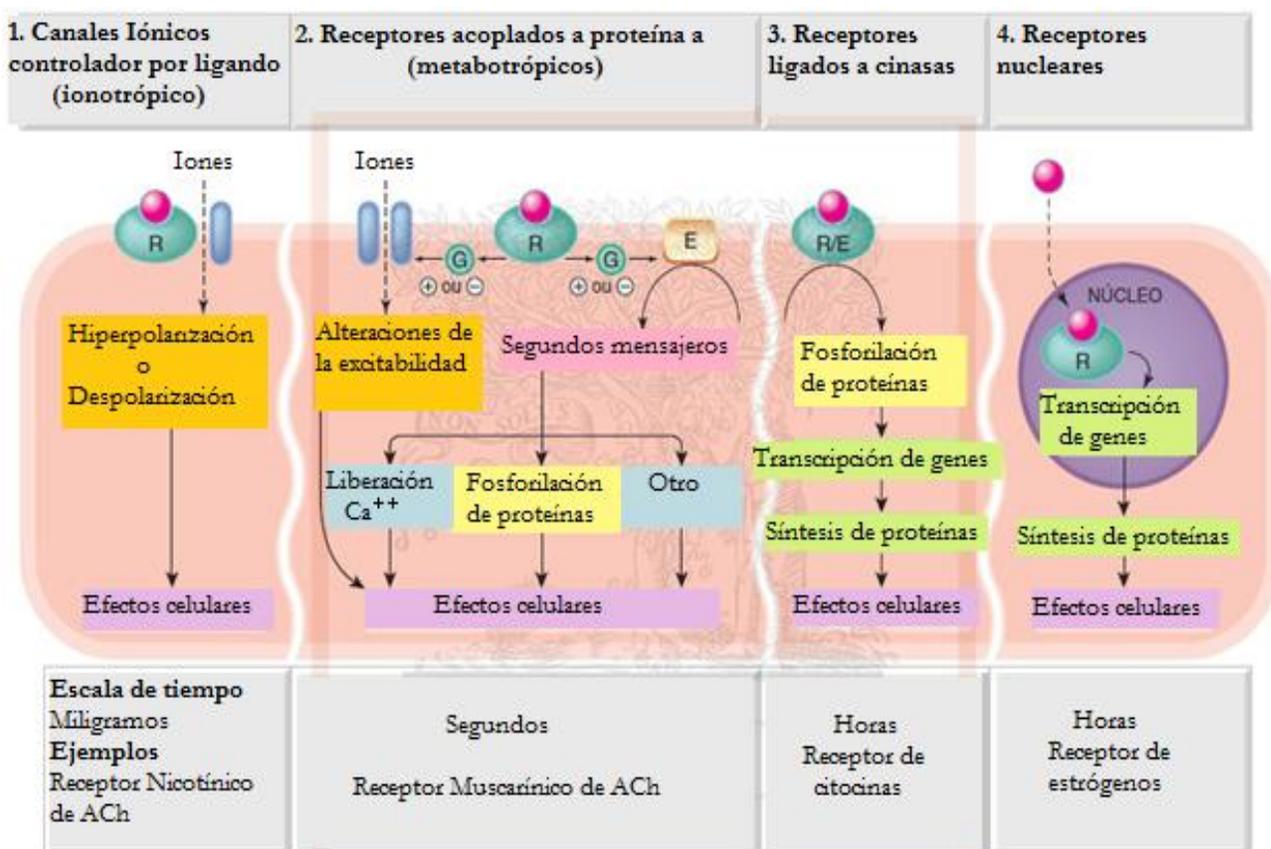
Se desea resaltar que para generar un cambio biológico se requiere la unión del fármaco a su receptor y aparte que éste posea actividad intrínseca (fármacos agonistas; los fármacos que tienen afinidad por un receptor pero no tienen actividad intrínseca se denominan fármacos antagonistas).

**Figura 11.** Relación entre la estructura química y la actividad biológica. Podemos observar que tanto el ligando endógeno, así como los fármacos agonistas y antagonistas pueden unirse al mismo sitio en un receptor, compitiendo por éste (debido a que comparten características estructurales). Pero solamente aquellos con actividad intrínseca originan una respuesta biológica. Recuperado y modificado de: <http://static3.demedicina.com/wp-content/uploads/agonists.gif>



Cuando uno se refiere a seguridad terapéutica, es con la intención de observar que el índice de seguridad ( $DT_{50}/DE_{50}$ ) es un problema a tratar para algunos fármacos que presentan una alta unión a proteínas plasmáticas y la concentración mínima tóxica se encuentra cercana a la dosis eficaz (éste dato es de considerable importancia cuando se hable de la degradación de nanoreservorios y la rápida liberación del principio genere concentraciones elevadas en determinados tejidos sobretodo para principios que tengan un valor del índice de seguridad cercano a 1).

**Figura 12.** Tipos de receptores en el organismo. Recuperado y modificado de: [http://pt-br.aia1317.wikia.com/wiki/Como\\_agem\\_os\\_f%C3%A1rmacos\\_-\\_Receptores\\_tipo\\_II,\\_III\\_e\\_IV](http://pt-br.aia1317.wikia.com/wiki/Como_agem_os_f%C3%A1rmacos_-_Receptores_tipo_II,_III_e_IV)



El concepto de relación estructura química- actividad biológica explica cómo la conformación tridimensional determina la interacción electroquímica con receptores proteínicos; denotando

---

---

la influencia de los grupos con carga, la longitud de las cadenas hidrocarbonadas, saturación de aminas, etc. Empleando estos conocimientos y con la ayuda de avanzados programas de química computacional se han diseñado nuevas entidades químicas que pretenden desplazar a sus precursores; lamentablemente este tipo de investigación tiene como principal limitación el tiempo de investigación (pueden pasar más de 10 años hasta la comercialización de una nueva entidad química) y a pesar de este tiempo la molécula prototipo puede presentar una pobre absorción en BHE, lo que terminaría con su posible aplicación. Esta es una razón por la que se propone el empleo de nanopartículas, con fármacos ostensiblemente eficaces y seguros, para generar sistemas de entreguen eficientemente al fármaco sólo en el sitio donde se desee que ejerza su efecto.

### 3.2 GENERALIDADES SOBRE BARRERA HEMATOENCEFÁLICA

Conociendo la importancia de que exista una concentración adecuada del agente terapéutico en el sitio de acción deseado el siguiente concepto que debemos entender es que, a excepción de la vía intranasal (se abordará más adelante), para acceder al parénquima cerebral y al líquido cefalorraquídeo de manera no invasiva debemos enfocarnos en los capilares cerebrales. Por ello debemos conocer las características de las células endoteliales de los capilares sanguíneos (CECSC). Por cuestiones pragmáticas hablaremos de la BHE como si fuese la única barrera sangre-cerebro, aunque se explicará más adelante a detalle.

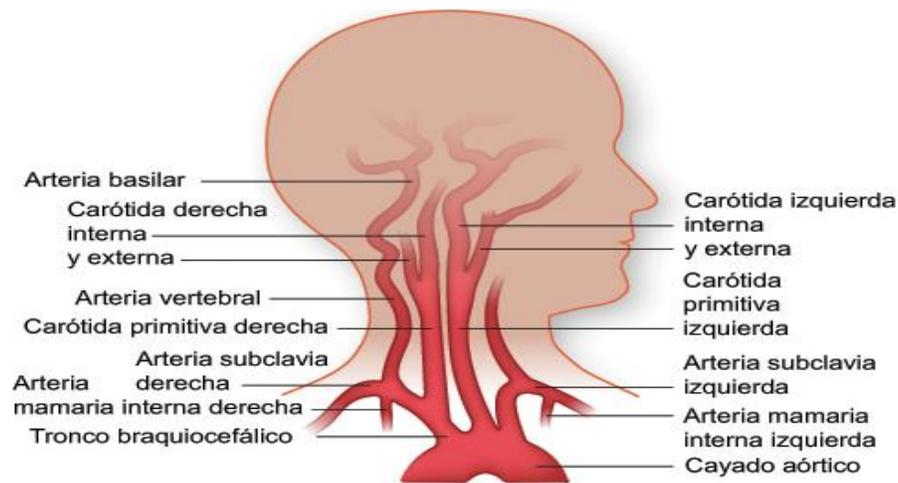
El desarrollo evolutivo de una estructura biológica se realiza en función de las características que le confieren ventajas de supervivencia al organismo, y no a partir de una situación de desventaja, como supondría la vulnerabilidad del tejido nervioso frente a cualquier agente potencialmente tóxico en sangre (Loch-Neckel y Koepp, 2010).

---

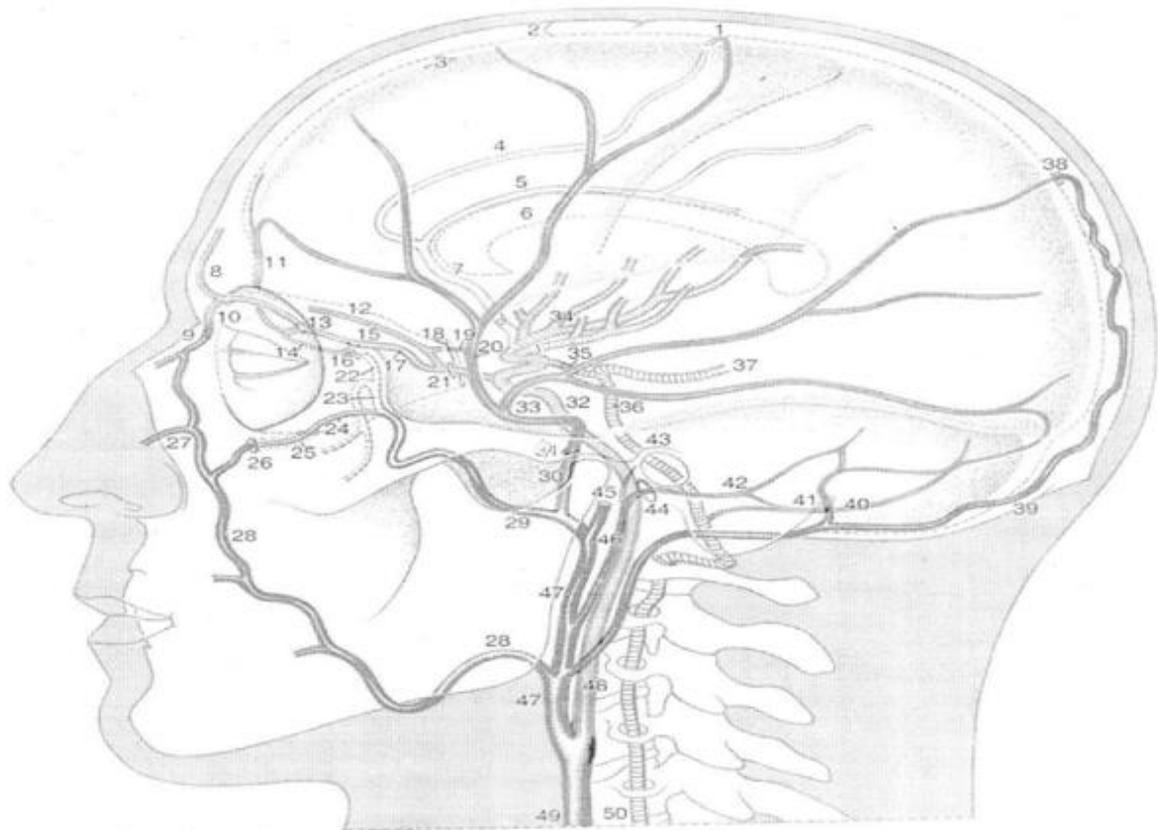
El cerebro es un órgano altamente vascularizado, recibe sangre antes que cualquier otra región. Y lo hace a través de cuatro arterias: dos arterias carótidas comunes o primitivas y dos arterias vertebrales, un par para cada hemisferio cerebral.

**Figura 13.** Ramificación y suministro de sangre al cerebro a partir de la arteria aorta.

Recuperado de: [http://4.bp.blogspot.com/-FBPmeC3yyuI/TqkmBH\\_etsI/AAAAAAAAAGA/ZizICg4qjPc/s1600/fig4\\_arthead\\_sp.jpg](http://4.bp.blogspot.com/-FBPmeC3yyuI/TqkmBH_etsI/AAAAAAAAAGA/ZizICg4qjPc/s1600/fig4_arthead_sp.jpg)



**Figura 14.** Sistema vascular cerebral. La ramificación de los vasos es ávida. Recuperado y modificado de: [http://investigacionesvasculares.proyectiva.com.ar/imagenes/faq\\_08.gif](http://investigacionesvasculares.proyectiva.com.ar/imagenes/faq_08.gif) (esquema en la siguiente página).



- |  |  |                                      |
|--|--|--------------------------------------|
| 1 Anastomosis cerebromeningea                  | 20 Arteria menígea media,<br>rama frontal    | 35 Arteria comunicante posterior     |
| 2 Bóveda craneal<br>(exterior e interior)      | 21 Canal óptico                              | 36 Arteria basilar                   |
| 3 Cerebro (superficie exterior)                | 22 Arteria conchal superior<br>(anastomosis) | 37 Arteria cerebral posterior        |
| 4 Arteria callosomarginal                      | 23 Arteria esfenopalatina                    | 38 Forámen parietal                  |
| 5 Arteria pericallosa                          | 24 Arteria infraorbital                      | 39 Arteria occipital                 |
| 6 Cuerpo calloso                               | 25 Canal infraorbital                        | 40 Arteria occipital, rama mastoidea |
| 7 Arteria anterior cerebral                    | 26 Forámen infraorbital                      | 41 Forámen mastoideo                 |
| 8 Arteria supratroclear                        | 27 Arteria angular                           | 42 Arteria menígea posterior         |
| 12 Arteria lagrimal                            | 28 Arteria facial                            | 43 Unión de las arterias vertebrales |
| 13 Forámen etmoidal anterior                   | 29 Arteria maxilar                           | 44 Forámen yugular                   |
| 14 Arteria etmoidal anterior                   | 30 Arteria menígea media                     | 45 Arteria temporal superficial      |
| 15 Forámen etmoidal posterior                  | 31 Forámen espinoso                          | 46 Arteria faríngea ascendente       |
| 16 Arteria etmoidal posterior                  | 32 Arteria carótida interna                  | 47 Arteria carótida externa          |
| 17 Arteria oftálmica                           | 33 Arteria menígea media,<br>rama parietal   | 48 Arteria carótida interna          |
| 18 Fisura orbital superior                     | 34 Arteria cerebral media,<br>parte insular  | 49 Arteria carótida común            |
| 19 Arteria menígea media,<br>rama anastomótica |  | 50 Arteria vertebral                 |

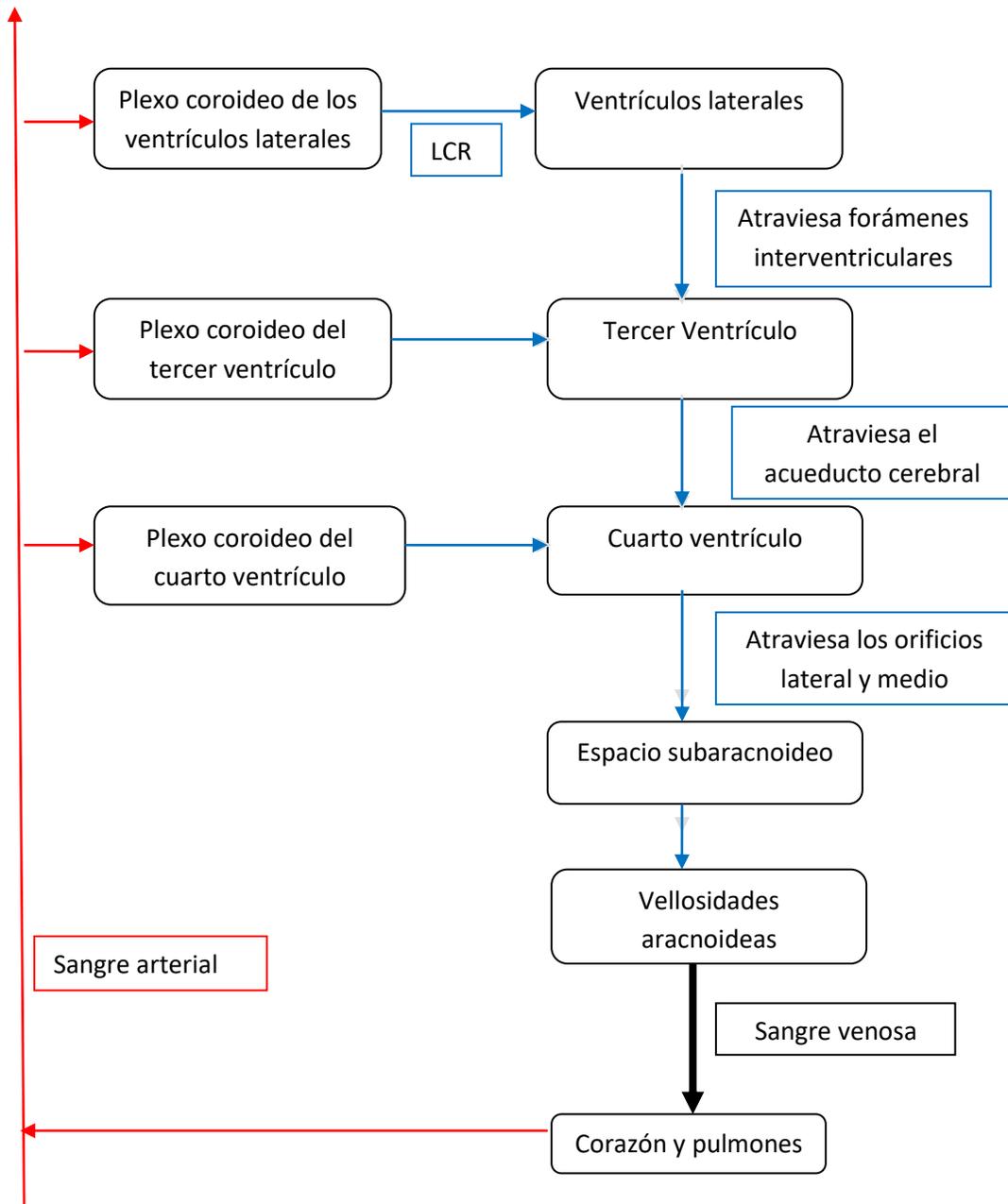
---

---

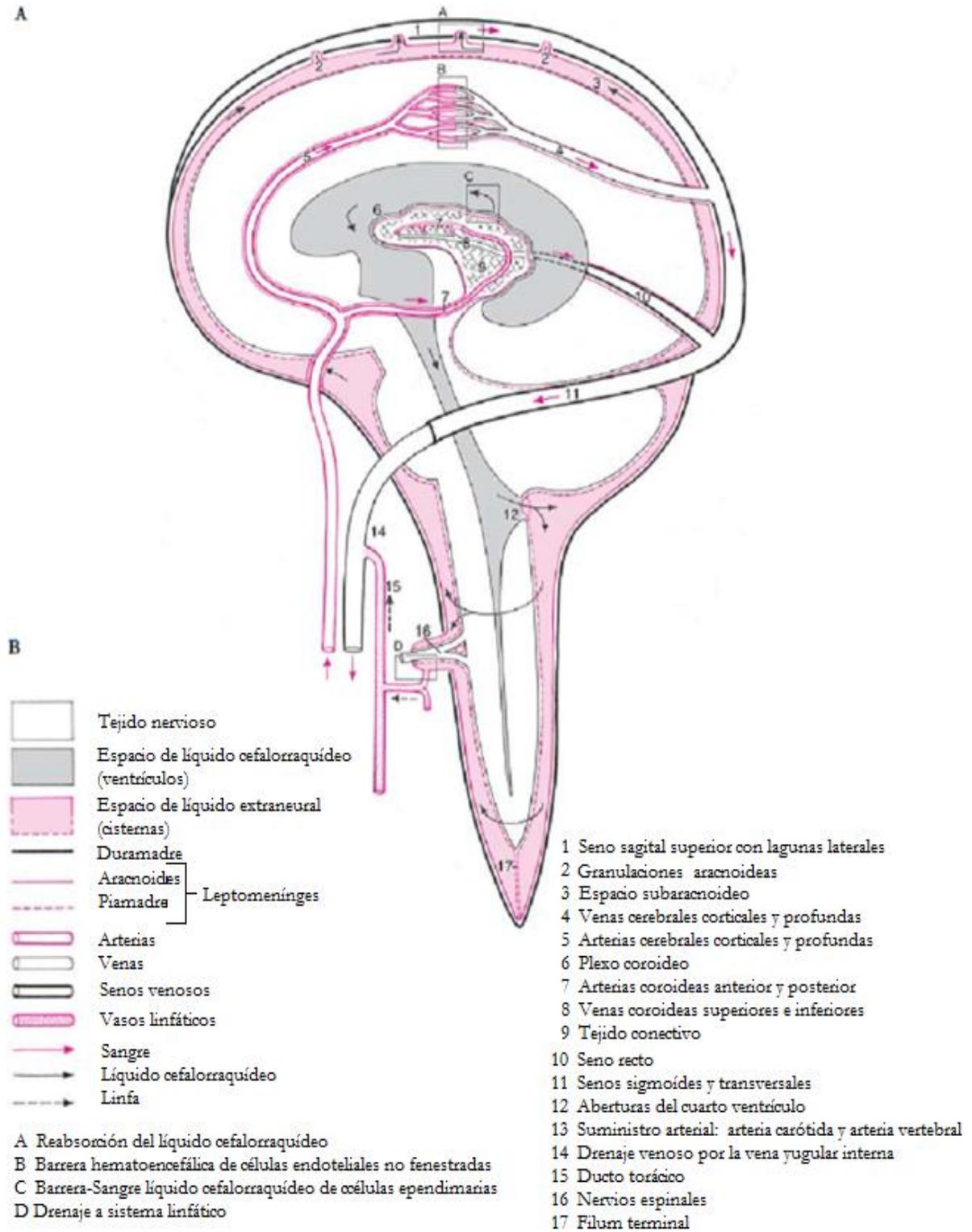
Como se muestra en la **figura 13** el cerebro recibe abastecimiento de nutrientes y de oxígeno antes que cualquier otro órgano y esta irrigado por las dos arterias carótidas comunes y por las dos arterias vertebrales; derecha como se muestra en la **figura 14**.

Existen algunas regiones de los capilares sanguíneos cerebrales donde existe una mayor filtración de líquidos y de nutrientes. En estas zonas se produce el LCR, se conoce como plexo coroideo a la red de capilares con células epiteliales (en vez de células endoteliales) y después viaja a dentro de los ventrículos cerebrales y recubre todo el parénquima cerebral. Hasta su posterior absorción en las vellosidades o granulaciones aracnoideas, como se muestra en la figura 15.

**Figura 15.** Diagrama de filtración de la sangre en los plexos coroides; formación de líquido cefalorraquídeo y su recirculación.



**Figura 16.** Esquema de la vascularización cerebral; formación y distribución de LCR. Ubicación de distintas barreras sangre-LCR. Recuperado y modificado de: <https://carlosteopata.files.wordpress.com/2013/04/rrp1070743.jpg>



---

---

### 3.2.1 Estructura de la Barrera Hematoencefálica

Se ha mencionado que la característica de permeabilidad de la BHE es conferida por las CECSC y la interacción con las células vecinas, pero es importante resaltar la existencia de otras barreras presentes en el sistema nervioso central (Barret *et al.*, 2012). Todas desempeñan un papel importante en el mantenimiento de un ambiente constante, propicio para las actividades cerebrales; algunas son macroscópicas como las barreras meninges (duramadre, aracnoides y piamadre) otras son visibles solamente con técnicas de microscopía electrónica; estas barreras del sistema nervioso son:

- **Barrera Sangre-Líquido Cefalorraquídeo (BSLCR):** Alrededor del 60% del LCR se forma por transporte activo a través de la membrana de los vasos sanguíneos del plexo coroideo. Aquí son células epiteliales con uniones densas (más adelante se explicará a detalle) las responsables de la función de permeación selectiva.
- **Barrera Vascular-Endotelial:** Esta es la zona de mayor área superficial, caracterizada por ausencia de fenestraciones y con uniones densas, donde se realiza el intercambio gaseoso y se obtiene azúcar y nutrientes. Más adelante se profundizará en el tema.
- **Barrera Aracnoides:** Los vasos sanguíneos duros son mucho más permeables que los capilares de las demás barreras gracias a que poseen fenestraciones en algunas zonas. Pero las células superficiales de la aracnoides forman una barrera que impide la filtración al LCR en el espacio subaracnoidal. Estas células también presentan uniones densas y comparten características similares con las demás barreras.
- **Revestimiento ependimario:** Los ventrículos cerebrales se encuentran revestidos por células ependimarias. Estas células no presentan uniones densas, por lo cual son incapaces de impedir el movimiento de moléculas entre los ventrículos y el tejido cerebral.

- 
- **Barrera Sangre- Nervio:** Este tipo de barrera se presenta en neuronas con axones que se prolongan grandes distancias. El mecanismo de protección es similar al de la barrera aracnoides, donde la barrera superficial es permeable, pero la más profunda no.

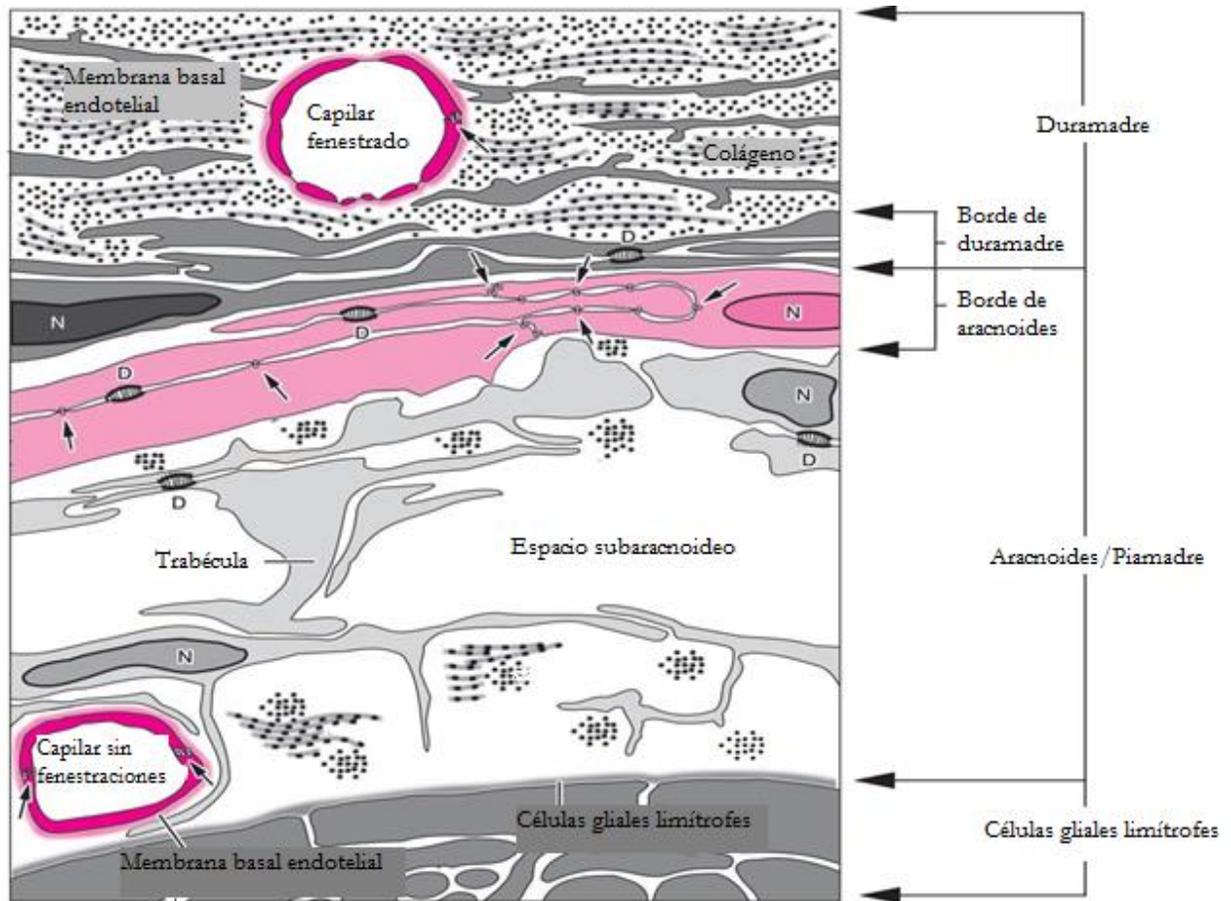
En los capilares cerebrales existen zonas donde no hay BHE y se les conoce como órganos circunventriculares (debido a que se encuentran en las paredes de los ventrículos tercero y cuarto.). Los órganos circunventriculares (OCV) abarcan al área postrema, la glándula pineal, eminencia media, lamina terminalis, neurohipófisis, órgano subfornical y órgano subcomisural (Misra *et al.*, 2003). Estas regiones coordinan las actividades homeostáticas de los sistemas endocrino y nervioso, así como la presión arterial, el equilibrio hídrico, el hambre y la sed.

Los capilares que corresponden a la denominada BHE abarcan cerca del 95% del total de los capilares. Éstos tienen una longitud de 650 km y tienen una superficie de  $12\text{m}^2$ . Se calcula que la resistencia eléctrica transendotelial *in vivo* se encuentre entre 1,500 y 2,000  $\Omega/\text{cm}^2$ . En el plexo coroideo la resistencia eléctrica transendotelial es de 200  $\Omega/\text{cm}^2$ . Este valor nos indica cuánta resistencia opone la membrana al movimiento de partículas, concretamente nos habla acerca de la difusión pasiva paracelular de moléculas hidrofílicas. El valor promedio en otros tejidos es de 3- 33  $\Omega/\text{cm}^2$ .

**Figura 17.** Estructura de las meninges craneales: Duramadre, Aracnoides y Piamadre..

Recuperado y modificado de:

<http://image.slidesharecdn.com/distensibilidadvascularyfuncionesdelossistemasarterial-110727222021-phpapp02/95/distensibilidad-vascular-y-funciones-de-los-sistemas-arterial-44-728.jpg?cb=1311805636>



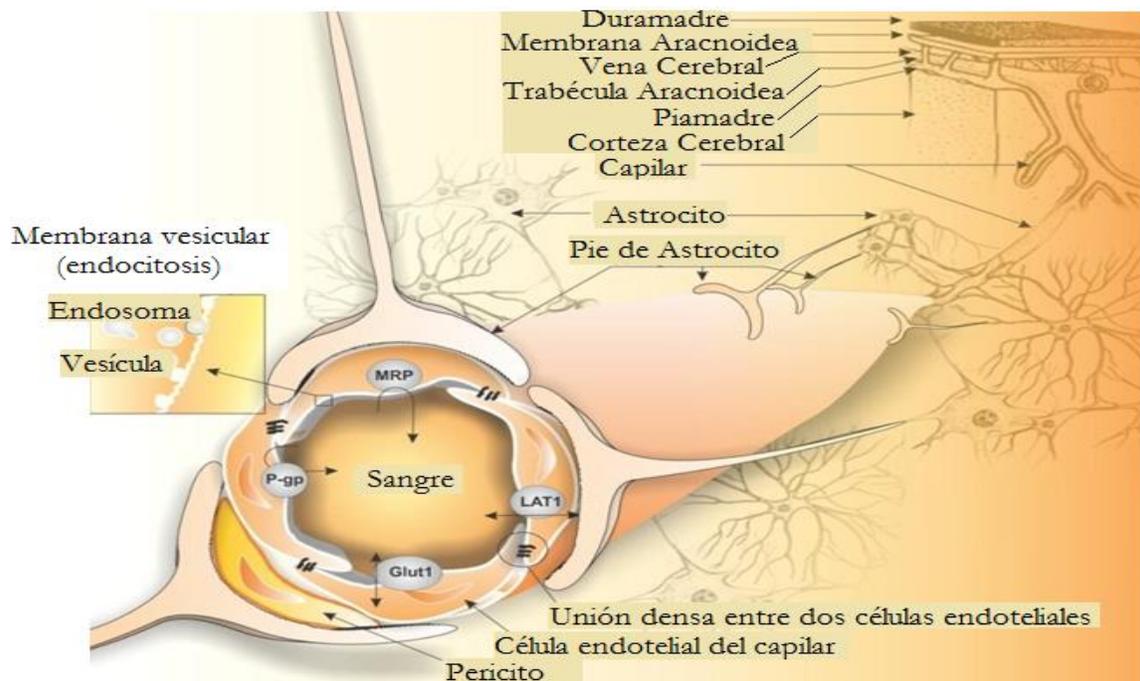
Se puede considerar que la BHE cumple una función selectiva al impedir el ingreso y la acumulación de sustancias tóxicas en el cerebro, ya que posee sistemas de transporte especializados en la membrana de las células endoteliales de los capilares sanguíneos (CECSC) que permiten el ingreso controlado de sustancias.

---

La principal condición de barrera, es propiedad de las características arquitectónicas de las células endoteliales de los capilares sanguíneos cerebrales (éstas muestran condiciones diferentes a todas las demás células endoteliales). Se ha demostrado la dependencia entre la expresión de proteínas como la ocludina y el recubrimiento del capilar por pies astrocitarios. Al parecer los pericitos y pies astrocitarios tienen una función paracrina, al estimular la expresión de ciertas proteínas en células vecinas (Brewer et al, 2007).

A pesar de que son las CECSC cerebrales las que poseen la capacidad de formar una barrera restrictiva, este efecto es inducido armónicamente por las células asociadas circundantes (astrocitos y pericitos). Por lo tanto las CECSC poseen un potencial intrínseco de formar una barrera, pero depende de estímulos externos precisos para su completo desarrollo anatómico y funcional, como se ilustra en la **figura19**.

**Figura 18.** Representación de las CECSC, su ubicación y asociación con pericitos y astrocitos. En el fondo observamos un astrocito con forma de estrella, cuyas prolongaciones (pies astrocitarios) envuelven capilares sanguíneos y neuronas. También observamos la presencia de las uniones densas que diferencian estos capilares de otros periféricos. Existen transportadores en la membrana luminal de las CECSC como GLUT1 y LAT1. Así como sistemas asociados a la resistencia a fármacos y eflujo de sustancias (MRP y P-gp). Recuperado y modificado de: Omid y Barar, 2012



En la **figura18** no es posible apreciar todos los mecanismos que complementan la función de barrera. Todos estos mecanismos son importantes y contribuyen a la homeostasis del organismo.

---

Las características de estos vasos son:

- Presentan Uniones Densas entre las células (claudina-3 y 5, ocludina, ZO-1 y JAM-A)
- Pinocitosis reducida
- Ausencia de fenestraciones
- La presencia de sistemas de eflujo (transporte al exterior), como la glicoproteína P.
- Una elevada expresión de enzimas metabólicas
- Una mayor proporción de mitocondrias en el citoplasma

La BHE está compuesta por cuatro tipos de células: a) las células endoteliales, b) los astrocitos, c) las células de la microglía y d) los pericitos. Estas células se encuentran estrechamente relacionadas y su acción conjunta genera las condiciones de transporte a través de la BHE, controlando la permeabilidad de manera física vía las uniones densas y vía fisiológica a través de los transportadores y enzimas en superficie (Omidi y Barar, 2012).

Con respecto a las estructuras de las uniones densas pueden ser de tres tipos funcionales: a) las uniones densas, b) uniones tipo ancla (adherentes) y c) uniones tipo gap (de comunicación). De las anteriores, las uniones densas se encargan de sellar el espacio intercelular; las uniones adherentes se emplean para mantener a las células unidas una a otra o a la matriz extracelular. Las uniones tipo gap median el paso de señales químicas o eléctricas de una célula hacia la célula contigua. Las uniones densas generan un límite en la velocidad y en el tamaño de las partículas que pueden atravesar por difusión paracelular.

Estas uniones densas formadas entre CECSC son muy similares a las uniones densas formadas entre células epiteliales. Sin embargo las uniones densas formadas por las CECSC son altamente sensibles a factores ambientales, lo que resulta en una disrupción de las uniones densas con un incremento de difusión paracelular; como lo demuestra el experimento de

---

---

Balbuena *et al.* (2011); en donde se lograba la disrupción de la BHE e incluso una expresión disminuida de las proteínas con dicha función después de la exposición a agentes neurotóxicos en células de la microvasculatura cerebral de ratones.

Existe una membrana basal que recubre las CECSC y los pericitos compuesta por colágeno tipo IV, laminina, fibronectina y sulfato de heparina, la cual también es importante para un pleno desarrollo anatómico y fisiológico.

**Células Endoteliales.** Las CECSC se disponen de una manera muy estrecha, esto debido a la morfología única que presentan las uniones densas. Las Células endoteliales selladas por estas uniones densas impiden la difusión paracelular de iones, péptidos y células inmunes provenientes de la circulación sanguínea.

Las uniones densas constan fundamentalmente de tres proteínas transmembranales: ocludina, claudina y moléculas de adhesión intercelular (MAI). La ocludina es una proteína de 60 a 65 kDa que contiene cuatro dominios transmembranales vinculados a dos porciones extracelulares ricas en tirosina en el dominio citoplasmático amino y carboxilo-terminal. Se ha demostrado que el dominio citoplasmático de la ocludina está altamente fosforilado y que está asociado a una resistencia elevada altamente y contribuye a una baja permeabilidad celular (Pardridge, 2010). La familia de las claudinas (20-24 kDa) comparten con las ocludinas unas posiciones muy similares en la membrana, pero no contienen ninguna secuencia homóloga. Estas proteínas tienen cuatro dominios transmembranales, dos porciones extracelulares altamente cargadas con cadenas laterales de aminoácidos y una cola citoplasmática con un importante papel en la transducción de señales. Forman dímeros y se adhieren a otras moléculas de claudina en las células endoteliales adyacentes, formando la conexión principal de la zona de oclusión/unión estrecha, y parece que determinan la función de la barrera. La familia zónula

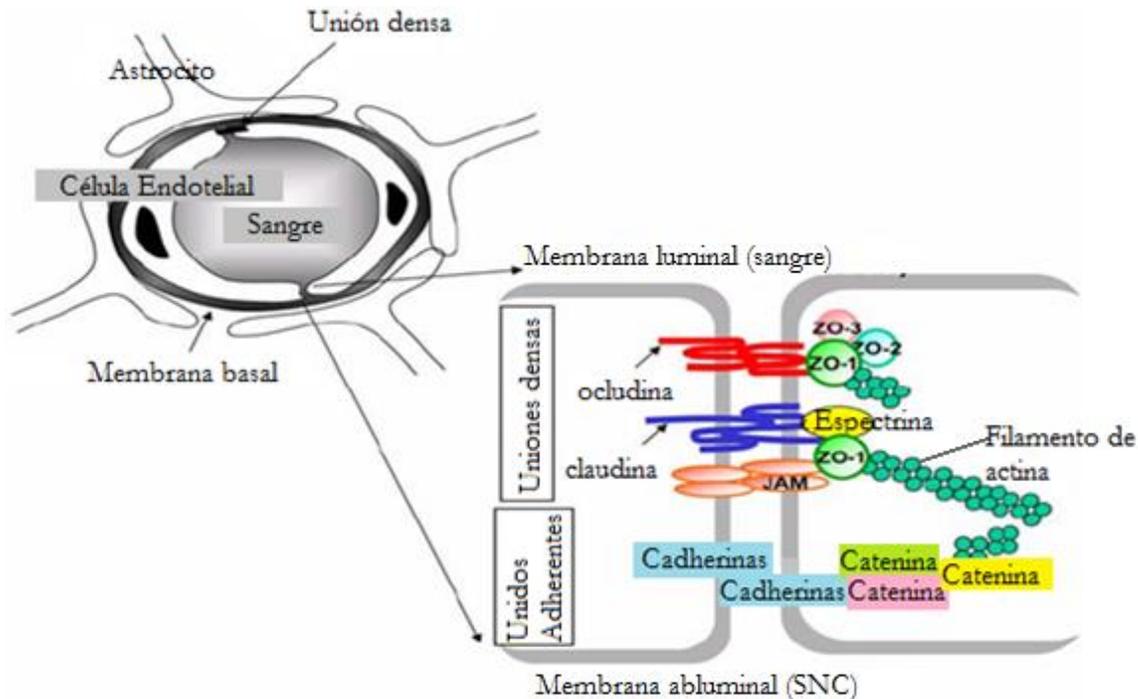
---

---

occludens (ZO), al citoesqueleto de actina. ZO-1, ZO-2, y ZO-3 pertenecen a la familia de guanilato cinasas asociadas a la membrana, conectan las membranas de las células adyacentes a través de interacciones homofílicas de una única cadena transmembranal con un gran dominio extracelular. Las proteínas de ZO están involucradas en la unión y el mantenimiento de las uniones estrechas, y son muy importantes en los cambios funcionales de las uniones, como en el aumento de la resistencia eléctrica transendotelial que se traduce como las disminuciones de la permeabilidad paracelular.

La fosforilación de las proteínas desempeña un paso fundamental para poder establecer y regular las uniones densas en la BHE en los residuos de serina, treonina y tirosina. La proteína cinasa C (PKC), es fundamental para establecer las uniones densas y para regular la migración de ZO1 a la membrana plasmática. (Omidi y Barar, 2012). Las uniones densas se localizan generalmente en zonas ricas en colesterol también llamadas balsas lipídicas. Los transductores intracelulares también son importantes para la formación de uniones estrechas y muchas proteínas intracelulares contribuyen a dicha composición. La ZO-1 conecta las proteínas transmembranales de la unión con el citoesqueleto de actina y está asociada a un aumento de la permeabilidad de la barrera. (Loch-Neckel y Koepp, 2010).

**Figura 19.** Representación de las uniones intercelulares entre las CECSC. Recuperado y modificado de: Kim et al., 2006.



Las cadherinas son glicoproteínas de adhesión muy importantes en los procesos de diferenciación y maduración de tejidos, aunque también se expresan en tejidos adultos. Existen diferentes tipos de cadherinas y se nombran dependiendo en el tejido donde se expresen; existen cadherinas en corazón, cerebro, embrión, etcétera. Estas proteínas son responsables de la adhesión celular junto con las cateninas.

**Astrocitos.** Recientemente se ha descubierto que los astrocitos tienen funciones de tipo neurogénicas y sinaptogénicas, es decir, inducen la formación de neuronas y de sinápsis, respectivamente. El avance en la comprensión del papel que desempeñan los astrocitos en la homeostasis del SNC, nos facilita la comprensión de los procesos patológicos y nos indica el camino terapéutico más adecuado.

---

---

Los astrocitos tienen prolongaciones que envuelven a las CECSC y a los pericitos y además estos interconectan las células endoteliales circundantes con las neuronas. Las CECSC pueden crecer en una monocapa asemejando la barrera biológica, pero es la influencia de los astrocitos lo que confiere las características funcionales de barrera hematoencefálica. (Loch-Neckel y Koepp, 2010).

**Pericitos y Microglia.** Los pericitos migran hacia la capa neuroendotelial durante la angiogénesis en el desarrollo del SNC. La relación entre los pericitos y las células endoteliales no se encuentra bien documentada. Pero se sabe que los pericitos influyen las CECSC mediante la endotelina-1. Entonces los pericitos regulan la contracción y dilatación de los vasos sanguíneos y de esta manera regulan el flujo sanguíneo cerebral.

Las células de la microglia se consideran células inmunitarias propias de esta zona. Aunque se le atribuyen algunas funciones como: la fagocitosis de materiales extraños y dirigir por quimiotaxis a los monocitos. Aún se investigan más de sus funciones en el SNC. (Tortora y Derrickson, 2006).

Los capilares sanguíneos se encuentran estrechamente relacionados a la actividad neuronal. Pues la activación de un circuito neuronal, incrementa el flujo sanguíneo local. Esto se considera como acoplamiento metabólico funcional, según Pascual *et al.*(2004). En el sistema nervioso central adulto las neuronas no están en contacto directo con los vasos sanguíneos, los astrocitos interconectan estas estructuras. Y es mediante canales de K<sup>+</sup> que inducen la vasodilatación localizada temporal para un acoplamiento metabólico funcional.

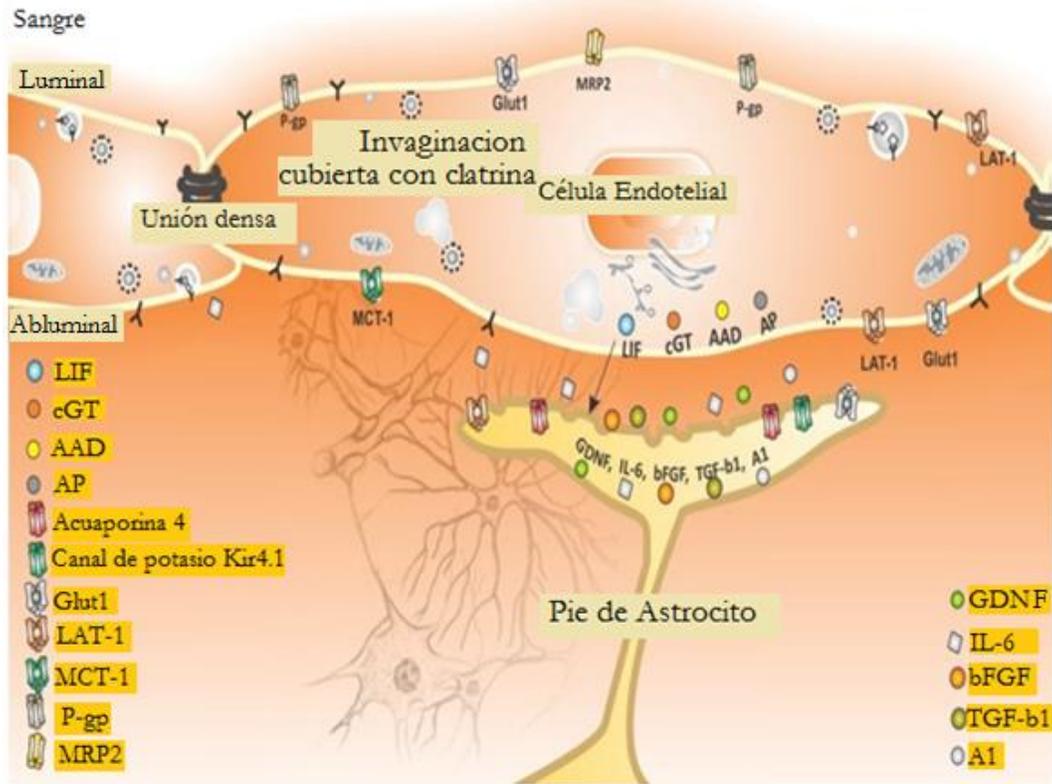
---

### 3.2.2 Influencia de las células glia sobre la integridad de la BHE

Hasta el desarrollo postnatal es posible apreciar la aparición de astrocitos, por lo tanto, se considera que son las CECSC las que promueven la diferenciación a células especializadas del BHE. (Tortora y Derrickson, 2006).

Actualmente, se sabe que los astrocitos son responsables de la inducción de expresión de proteínas capaces de realizar las uniones densas en las CECSC (Omid y Barar, 2012). También regulan la expresión de transportadores (como el de glucosa, GLUT1 y como la glicoproteína-P), así como la expresión de algunas enzimas relacionadas con el carácter de BHE. Estas funciones se realizan mediante la interacción con los pies astrocitarios y la inducción mediante el factor derivado de los astrocitos (ADF). Como se puede observar en la figura 20 la influencia del astrocito mediante liberación de distintos mensajeros celulares.

**Figura 20.** Representación de la interacción entre las células endoteliales y los pies astrocitarios. Observamos una diversidad de mensajeros celulares y la expresión de diversos transportadores. Revisar abreviaturas. Recuperado y modificado de: Omid y Barar, 2012.



Los pies astrocitarios, al ser observados mediante microscopía electrónica empleando una técnica de criofractura, denotan una extensa zona de alta densidad con partículas en un arreglo ortogonal. Estas partículas corresponden a los canales de agua y de potasio presentes en los pies astrocitarios; de gran importancia para la función astrocitaria. Como se mencionó los astrocitos secretan múltiples factores al medio; entre ellos la Angiopoyetina 1 (A-1), a la cual se ha encontrado como responsable de la migración de células al endotelio vascular y para contribuir a la permeabilidad de la zona. Tie-2 es el receptor en las células endoteliales de la angiopoyetina-1.

---

---

Se ha encontrado diversidad de factores derivados de los astrocitos que están directa o indirectamente relacionados con las propiedades de BHE; encontramos citocinas y otras proteínas de función diversa.

En la **figura 20** podemos observar algunos de estos mensajeros celulares. Los factores derivados de los astrocitos (ADF) son:

- Angiopoyetina-1 (ang-1): Se ha sugerido que la angiopoyetina 1 actúa mediante los receptores endoteliales transmembranales tirosina-cinasa 1 y 2 (Tie 1 y Tie 2), estimulando la producción de factores de crecimiento que a su vez estimulan la diferenciación de las células mesenquimales vecinas que rodean al vaso en formación.
- Trombospondina-1 (TSP-1): Proteína multifuncional encontrada en diversos procesos biológicos incluyendo: apoptosis, activación de TGF-Beta y regulación del sistema inmune. TSP1 presenta actividad antiangiogénica, inhibiendo la proliferación y migración de células endoteliales por interacción con el receptor CD36 expresado en la superficie de estas células. Produciéndose, secuencialmente, apoptosis celular.
- Interleucina-6 (IL-6): glicoproteína secretada por macrófagos, células T, células endoteliales y fibroblastos. Interviene en la producción de inmunoglobulinas, en la diferenciación de linfocitos B, activa a los linfocitos T citotóxicos, modula la hematopoyesis y es la responsable, junto con la IL-1, de la síntesis en especial fibrinógeno.
- Factor Transformante de Crecimiento-  $\beta$ -1(TGF- $\beta$ 1): Se ha considerado que tiene actividad angiogénica y también se considera importante para la migración celular.
- Factor básico de crecimiento de fibroblastos (bFGF): es un factor de crecimiento que aumenta el índice de mitosis y de síntesis de ADN, facilitando la proliferación de

---

---

varias células precursoras, que forman el tejido fibroso, de unión y soporte del cuerpo. Este factor también ha sido relacionado con la angiogénesis tumoral en procesos oncogénicos.

- Factor neurotrófico derivado de las células gliales (GDNF): La familia de ligandos de factores neurotróficos derivados de las células gliales han demostrado influir en diversos procesos biológicos, como: la supervivencia de neuronas, migración y diferenciación celular. En lo particular, GDNF promueve la resistencia de neuronas dopaminérgicas.

A la interacción entre los astrocitos, los pericitos, las CECS y las neuronas se les conoce como la unidad neurovascular funcional. (Loch-Neckel y Koepp, 2010).

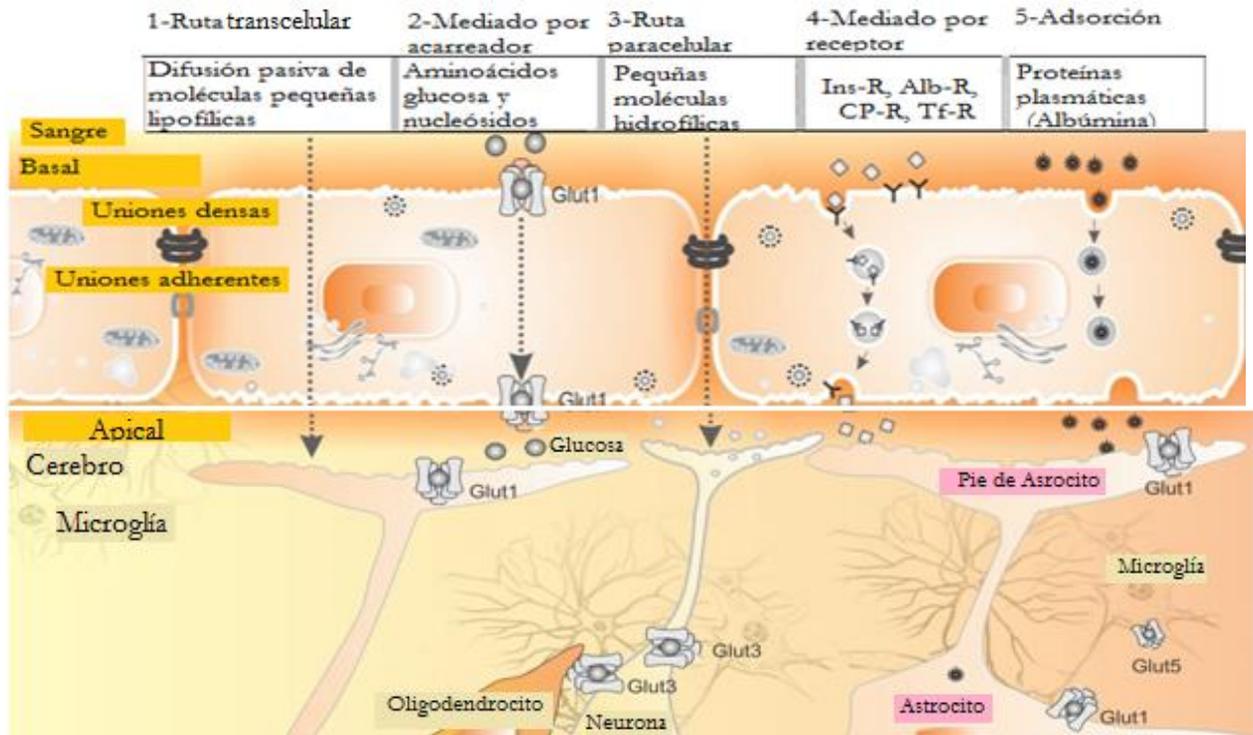
Para mayor información acerca de la formación e integridad de la BHE y del mantenimiento de la homeostasis neuronal consultar referencias citadas.

### 3.2.3 Mecanismos de permeación a través de la Barrera Hematoencefálica

Existen diversos parámetros que nos ayudan a predecir la capacidad de una determinada sustancia para atravesar las barreras biológicas del cerebro, entre estos se encuentran: el peso molecular de la sustancia, su lipofilicidad, pKa, grado de unión a proteínas plasmáticas, problemas de salud, idiosincrasia (variabilidad genética), etcétera.

El transporte a través de la membrana de las CECS como es muestra en la figura puede realizarse por: a) difusión pasiva transcelular para compuestos liposolubles, b) difusión pasiva migración paracelular de pequeños compuestos hidrofílicos, c) transporte mediado por acarreadores, d) endocitosis o transcitosis mediada por receptores y e) por endocitosis en fase fluida (adsorción).

**Figura 21.** Posibles rutas de ingreso de una sustancia al SNC. Recuperado y modificado de: Omid y Barar, 2012



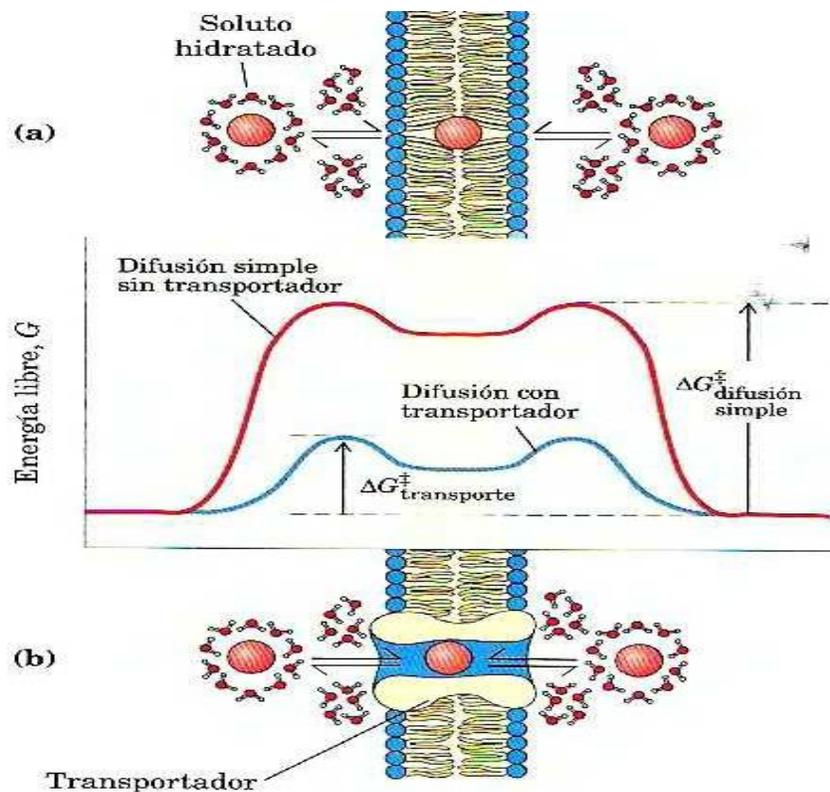
### 3.2.3.1 Difusión Pasiva

La migración pasiva a través de la BHE está limitada a solutos pequeños (menores a 600 Da) lipofílicos y esta depende directamente de las propiedades fisicoquímicas de la molécula (logP, solubilidad, carga superficial, etcétera.). La difusión pasiva también se ve influenciada por solutos con propiedades dependientes del pH.

Las membranas celulares tienen un grosor de aproximadamente 3 nm y su naturaleza lipídica la convierte impermeable a sustancias de elevado peso molecular hidrofílicas. Para traspasar la bicapa lipídica las moléculas deben eliminar primero sus interacciones con las moléculas de agua de la capa de hidratación y difundir unos 30 Å a través del ambiente lipídico. La energía necesaria para romper la capa de hidratación y desplazar el compuesto polar o cargado a través

de la bicapa lipídica es enorme. Esta energía de activación es tan grande que asegura que la membrana sea impermeable a sustancias polares y cargadas. Las proteínas transportadores o canales disminuyen esa energía de activación mediante interacciones débiles que atenúan el cambio de energía libre positiva por deshidratación ( $\Delta G_{\text{deshidratación}}$ ) facilitando el proceso, como se muestra en la **figura 22**. Los transportadores unen a sus sustratos con una alta estereoespecificidad, median el transporte a velocidades que están muy por debajo del límite de la difusión libre y son saturables. Los canales tienen menor estereoespecificidad pero han mostrado una velocidad cercana al límite de difusión libre y en condiciones fisiológicas no son saturables.

**Figura 22.** Cambios energéticos que acompañan la migración de un soluto hidrófilo en a) ausencia y b) en presencia de un transportador



---

---

El flujo de cualquier fármaco a través de una barrera se puede predecir empleando la siguiente fórmula:

$$J = -D * K_p * A (dC/dx)_t$$

Donde:

J: es el flujo del fármaco.

D: es el coeficiente de Difusión a través de una barrera celular.

A: es el área de superficie de absorción.

$K_p$ : es un coeficiente global de partición (membrana celular/ fluido acuoso).

$dC / dx$ : Corresponde al gradiente de concentración a través de la membrana de absorción a un tiempo determinado.

La difusión pasiva es la vía de permeación de la mayoría de los agentes empleados en el tratamiento de cáncer, aún a pesar de que estos sean sustratos los transportadores de eflujo celular como P-gp, MRP y BCRP.

### 3.2.3.2 Transporte activo en la Barrera Hematoencefálica

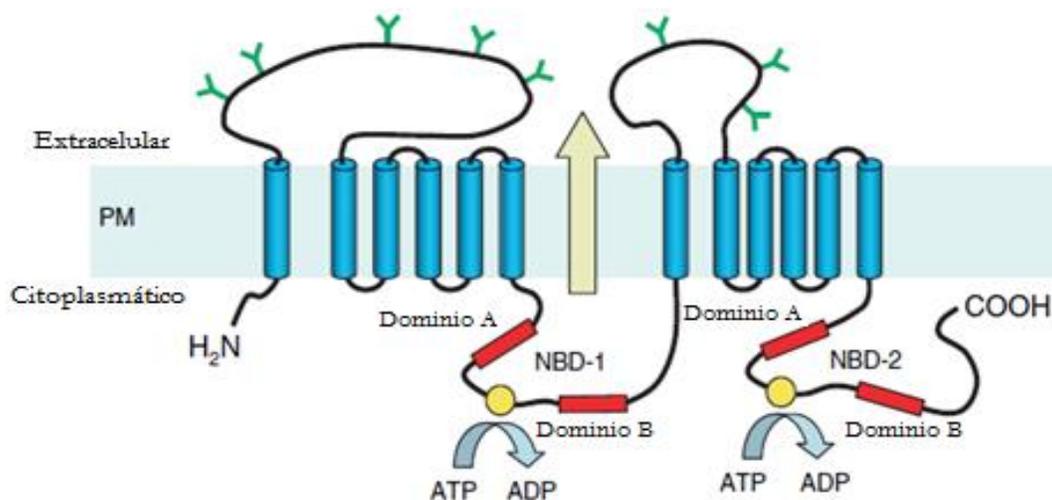
Los transportadores de membrana ayudan a moléculas relativamente pequeñas a migrar a través de las CECSC. Este tipo de transporte es empleado para facilitar el paso de nutrientes, como hexosa, nucleósidos, bases púricas y aminoácidos, al cerebro. Se identificaron al menos ocho sistemas diferentes de portadores de nutrientes y cada uno transporta un grupo de estructuras idénticas. Este tipo de transporte es selectivo de sustratos, la velocidad de transporte depende del grado de ocupación del portador y puede estar influido por inhibidores competitivos y no competitivos. (Loch-Neckel y Koepp, 2010).

---

Existen transportadores tanto para el ingreso de sustancias, como para eflujo.

**Transportadores de eflujo.** Las bombas de eflujo dependientes de ATP (transportadores tipo ABC) representan la principal herramienta para bloquear el ingreso de sustancias al sistema nervioso central. De estas “bombas” la más estudiada es la glicoproteína P, también conocida como proteína relacionada con la resistencia a múltiples drogas (MRP). Este transportador posee 12 dominios transmembranales y podemos observar su estructura en la figura 23.

*Figura 23. Representación de la estructura de un transportador del tipo ABC. Este posee 2 dominios transmembranales hidrófobos, que contienen 6  $\alpha$ -hélices (en azul) y dos dominios de unión a nucleótidos NBD. Recuperado y modificado de: <http://www.monografias.com/trabajos14/absorcion/Image2883.gif>*



Hay que destacar la gran cantidad de fármacos que son sustratos de la glicoproteína-P, en otras palabras, su ingreso al sistema nervioso central se ve limitado por efecto de un transporte activo de salida constante con hidrólisis de ATP. Dentro de estos sustratos encontramos a los siguientes fármacos: acebutolol, actinomicina D, amprenavir, azidopina, cerivastatina, cefarantina, cloroquina, cimetidina, claritromicina, colchicina, cortisol, ciclosporina,

---

daunorrubicina, dexametasona, digitoxina, digoxina, dipiridamol, docetaxel, domperidon, doxorubicina, eletriptán, emetina, epinastina, eritromicina, estradiol glucuronizado, estrona, etilnilestradiol, etopósido, fexofenadina, grepafloxacino, imatinib, indinavir, irinotecan, ivermectin, lansoprazol, levofloxacino, loperamida, losartán, lovastatina, metilprednisolona, mitoxantreno, morfina, neostigmina, omeprazol, pantoprazol, prazosin, prednisolona, puromycin, quinidina 2, ramosetron, ranitidina, reserpina, ritonavir, saquinavir, somatostatina, ciprofloxacino, talinolol, paclitaxel, terfenadina, trimetoprima, vecuronio, verapamilo, vinblastina, vincristina y la lista se incrementa año con año conforme se patentan nuevos principios activos. Estos fármacos son sustratos de la glicoproteína-P (MRP), pero existen otras 5 isoformas de este transportador y se expresan en BHE o SNC, las otras isoformas tienen otros sustratos. Por ejemplo la MRP4 tiene la capacidad de reconocer a los siguientes sustratos: cAMP, cGMP, dehidroepiandrosterona-3 sulfato, estradiol-17 $\beta$ -D-glucuronizado, folato, metotrexato, así como la protaglandina E1 y E2. (Tortora y Derrickson, 2006).

Es importante mencionar la presencia de otros transportadores como la proteína de resistencia al cáncer de pecho BCRP, se ha reportado que tiene actividad similar a la de la glicoproteína-P.

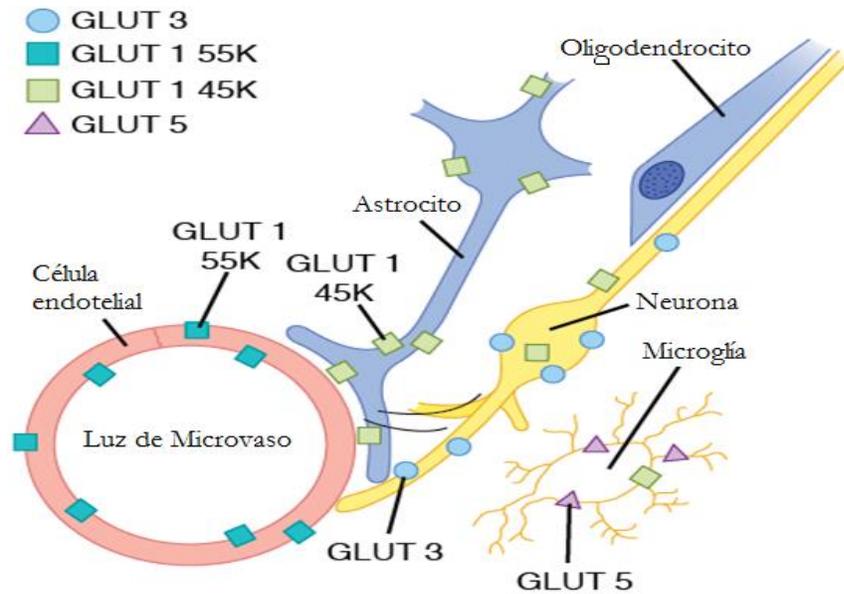
**Transportadores de Ingreso.** En cuanto a los transportadores, cuya finalidad es el aporte de los nutrientes necesarios para formar y mantener un ambiente neuronal adecuado, los podemos clasificar en base a los sustratos requeridos transportados por lo tanto existen:

- **El sistema de transporte de energéticos.** Dentro de esta clasificación encontraremos los transportadores responsables del ingreso de sustratos energéticos, como el transportador de glucosa y manosa (GLUT1 y GLUT 3, se encuentran en CECSC y neuronas, respectivamente), el transportador de monocarboxilatos (MCT) para lactato,

transportador para ácidos grasos de cadena corta, para biotina. También encontramos al transportador de creatina.

**Figura 24.** Expresión y distribución de los distintos transportadores de glucosa en el SNC.

(Barret, 2012)



- **El sistema de transporte de aminoácidos.** Este sistema agrupa un transportador para aminoácidos neutrales corto y otro para aminoácidos de cadena larga (LAT2 y LAT1 respectivamente). Este transportador también es importante en el ingreso de L-Dopa (precursor del neurotransmisor dopamina). Los aminoácidos ácidos (Aspartato y Glutamato) son sustratos del transportador de aminoácidos excitadores (EAAT), mientras que los básicos, como Arginina y lisina, son sustrato del transportador de aminoácidos básicos (BAAT). También encontramos el transportador para taurina y alanina (TAUT). También se considera el transportador para glicina GLYT1 y GLYT2.

- 
- **El sistema de transporte para aniones orgánicos.** Incluye a OATP2 y a OATP 14, que transportan a la digoxina y aniones orgánicos. OCTN2 reconoce a la carnitina como sustrato.
  - **El sistema de transporte de nucleósidos.** Incluye a los transportadores de oligopéptidos PepT1 y PepT2, así como el sistema de transporte de polipéptidos como OAT3, OATP14 (para hormonas tiroideas).
  - **El sistema de transporte de neurotransmisores.** En esta sección encontramos los transportadores para GABA, para serotonina y para norepinefrina, estos son: GAT1-GAT4, SERT y NET, respectivamente.
  - **El sistema de transporte de lípidos.** Este tipo de transportadores son de especial importancia para este órgano, puesto que el cerebro es el órgano con mayor proporción y complejidad de lípidos. La materia gris está compuesta por 40% lípidos (peso seco), mientras que la materia blanca es casi un 60% de lípidos en peso seco (Tortora y Derrickson, 2006). Dada su extensa difusión, se ha estudiado ampliamente el papel de los transportadores tipo ABC dependientes de ATP (ABC) en la incorporación de los lípidos al SNC. Se ha encontrado principalmente 13 de los 48 transportadores que componen la supefamilia de ABC relacionados con el equilibrio lipídico. En la siguiente tabla se enumeran los aspectos relativos a estos transportadores. (Kim *et al.*, 2007).

**Tabla 1.** Transportadores relacionados al flujo de lípidos en el SNC. Localización del gen, peso molecular, grado de expresión en las CECSC y sustratos de cada transportador. Recuperado y modificado de: Kim *et al.* 2008. (tabla en la siguiente página)

Nombre del Gen/ ID Ensembl/ ID SwissPROT	Cromosoma/Ubicación	Peso Molecular calculado kDa/ sitios de unión GlcNAc	Confirmada o potencial asociación a la enfermedad	Expresión Cerebral	Lípidos transportados
ABCA1/ENSG00000165029/O95477	9/106 583 104-106 730 339	254/21	CAD, FHA, Targiet, Alzheimer	**	Ch, PL
ABCA2/ENSG00000107331/Q9BZC7	9/139 021 507-139 043 151	270/25	Alzheimer	*****	SM, Lípidos de mielina
ABCA3/ENSG00000167972/Q99758	16/2265,878-2330 595	191/0	RDS	**	PC, PG
ABCA4/ENSG00000196691/P78363	1/94 230 981-94 359 279	256/15	Stargardt	*	Ret-PE
ABCA7/ENSG00000064687/Q8IZ12	19/992 361-1016 424	234/1	-----	**	Ch, PL
ABCA8/ENSG00000141338/O94911	17/64 375 028-64 463 128	179/5	-----	*	LTC 4
ABCB1(MDR1)/ENSG00000085563/P08183	7/86 970 884-87 180 500	142/3	Parkinson	**	PL, SM, GSL
ABCB4(MDR3)/ENSG00000005471/P21439	7/86,869,302-86,942,991	142/2	PFIC	*	PC
ABCD1(ALDP)/ENSG00000101986/P33897	X/152 643 517-152 663 410	83/1	X-ALD	**	VLCFA
ABCD2(ALDRP)/ENSG00000173208/Q9UBJ2	12/38,232,814-38,300,237	83/2	-----	**	VLCFA
ABCG1/ENSG00000160179/P45844	21/42 509 335-42 590 421	76/0	Alzheimer	***	Ch
ABCG2(BCRP1)/ENSG00000118777/Q9UNQ0	4/89 230 441-89 299 035	72/0	Cáncer de mama	**	PC, PS
ABCDG4/ENSG00000172350/Q9H172	11/118 524 960-118 538 582	72/1	-----	*****	Ch

---

---

Como se mencionó anteriormente estos transportadores pertenecen a la superfamilia de los transportadores dependientes de ATP (ABC). También se mencionó que el transportador más estudiado e importante de esta familia es la glicoproteína-P; por lo tanto estos transportadores comparten ciertas secuencias entre ellos. Debido a lo anterior carece de sentido didáctico esquematizar todos los transportadores señalados.

Actualmente existen bases de datos que contienen información similar a la desplegada anteriormente, por lo tanto se puede emplear esta base de datos para buscar las características deseadas, como nivel y lugar de expresión, afinidad por diversos sustratos y la ubicación del gen responsable de la transducción de la proteína transmembranal (transportador).

También existen otros receptores en las células endoteliales de gran importancia clínica (sobre todo cuando hablamos de vectorización de NP); estos son: el receptor de: insulina, lipoproteínas de baja densidad (LDL), factor de crecimiento similar a la insulina (ILGF-I y II), interleucina-1 (IL-1), ácido fólico (FA) y transferrina (Tf). (Béduneau, Saulnier y Benoit, 2007).

**Receptor de Insulina.** Es bastante lógico pensar en la vasta expresión de receptores de insulina si consideramos la necesidad de mantener un aporte constante de glucosa al SNC. Así que el receptor en la barrera hematoencefálica para insulina posee una alta afinidad por la anterior. Se ha demostrado que el mecanismo por el cual ingresa la insulina es por transcitosis (Pardridge, 2010). El uso de insulina como ligando acarreador podría generar hipoglicemia en el paciente. Es por esto que se emplea un anticuerpo monoclonal; el cual se observó ser internalizado rápidamente al cerebro. Estos estudios se realizaron en monos Rhesus empleando anticuerpo monoclonal dirigido al receptor de insulina humano (HIRMAb).

---

**Receptor de Transferrina.** Aparte de encontrarse una expresión importante del receptor transferrina en las CECSC, estudios han demostrado la sobreexpresión de este receptor en tumores. Este hecho resulta sumamente importante en el diseño de acarreadores eficientes en el tratamiento de tumores cerebrales y extracerebrales. Por desgracia, los niveles de transferrina endógena están muy elevados, lo que resulta en una máxima ocupación de los receptores. Aunque este hecho no limita ni la investigación relacionada ni el hecho de que se ha obtenido cierto éxito al emplearse este receptor como medio de ingreso al SNC (Jiang *et al.*, 2012). Otras áreas de investigación que implican el uso de este receptor son el empleo de un anticuerpo monoclonal para el receptor de Transferrina OX26. Así como el uso de lactoferrina, la cual demostró tener índices de absorción del doble que el lote formulado con transferrina (Huang *et al.*, 2008).

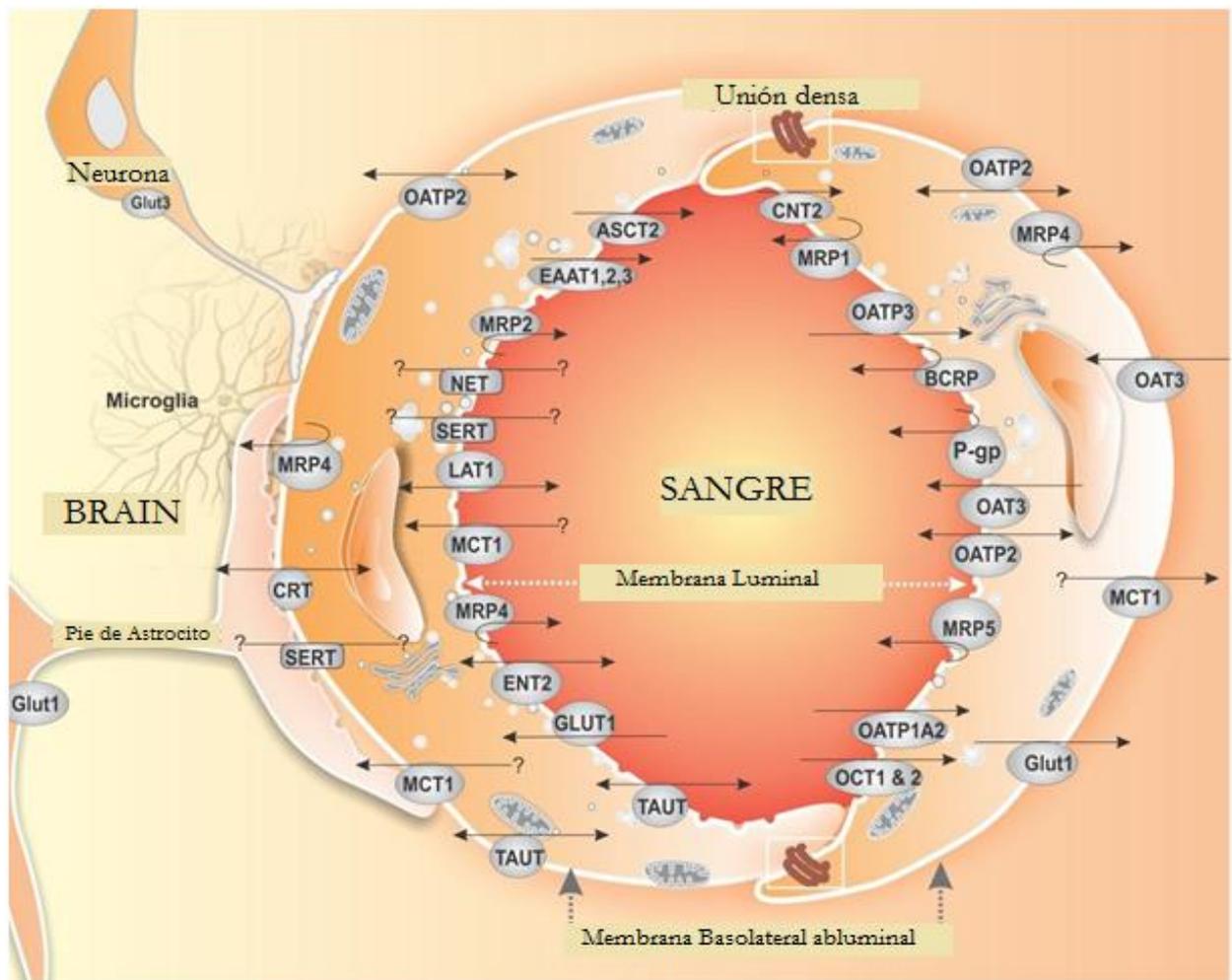
**Receptor de Lipoproteínas de baja densidad (LDLR).** Gracias a experimentos de Meresse en 1989 se pudo observar la existencia de un sitio de reconocimiento para LDL en las CECSC. Actualmente para explotar esta característica se han diseñado nanopartículas con recubrimiento, las cuales adsorben selectivamente la apolipoproteína E (la cual tiene más afinidad por los receptores LDL de las CECSC). (Kasongo *et al.*, 2011)

**Proteína relacionada al receptor de LDL (LRP).** Este receptor fue reconocido por su actividad de “secuestrar” (mecanismo endocítico) moléculas de LDL oxidadas o acetiladas. Este receptor es estudiado e incluso existe un péptido que es reconocido e internalizado por este receptor. Actualmente se emplea este péptido para facilitar la migración en BHE. (Angiopep-2; Shen *et al.*, 2011).

**Receptor de Folato.** Se conoce la vasta expresión de este receptor en las células cancerosas, por lo que se ha considerado para poder dirigir el tratamiento específicamente a un tumor cerebral. (Gonzalo y Muñoz)

En la figura 25 podemos observar la ubicación y los componentes de los sistemas de transporte más importantes en el cerebro.

**Figura 25.** Expresión de transportadores sobre la membrana luminal y abluminal de las CECSC. Observar abreviaturas para descripción. Recuperado y modificado de: Omidi y Barar, 2012.



---

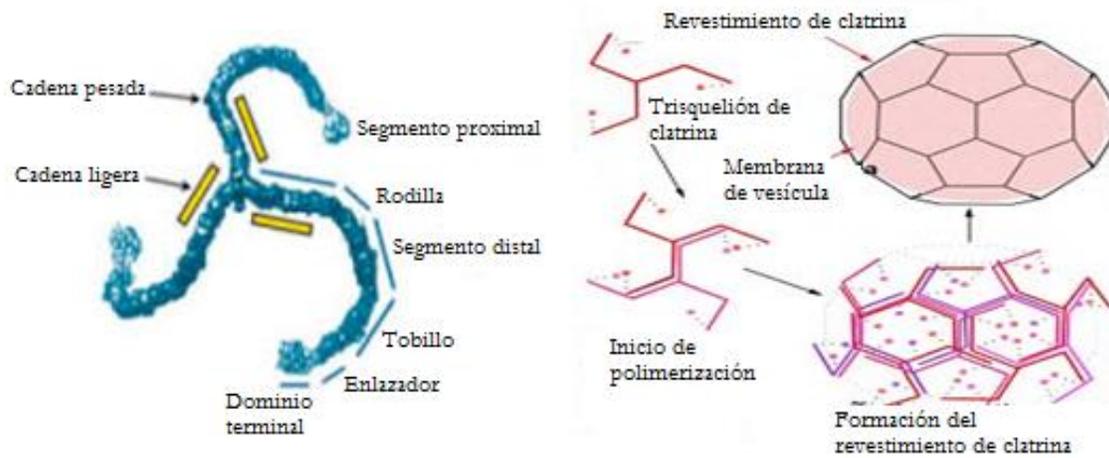
---

### 3.2.3.3 Vía Endocítica

La célula emplea distintos mecanismos de endocitosis con la finalidad de abastecer la demanda cerebral de distintos sustratos. Las características fisicoquímicas superficiales del nanoacarreador y las interacciones con los elementos de la superficie celular endotelial (balsas lipídicas, caveolas y las zonas revestidas con clatrina) determinarán la posible ruta de permeación. Es importante mencionar que el transporte de macromoléculas se realiza principalmente por endocitosis en fase fluida. La endocitosis mediada por clatrina es el transporte más documentado, por lo tanto se ha observado la posibilidad de emplear este transporte para sortear los mecanismos restrictivos de la barrera hematoencefálica. Asimismo se ha considerado el empleo de nanopartículas modificadas en su superficie con la finalidad de interactuar con estos mecanismos.

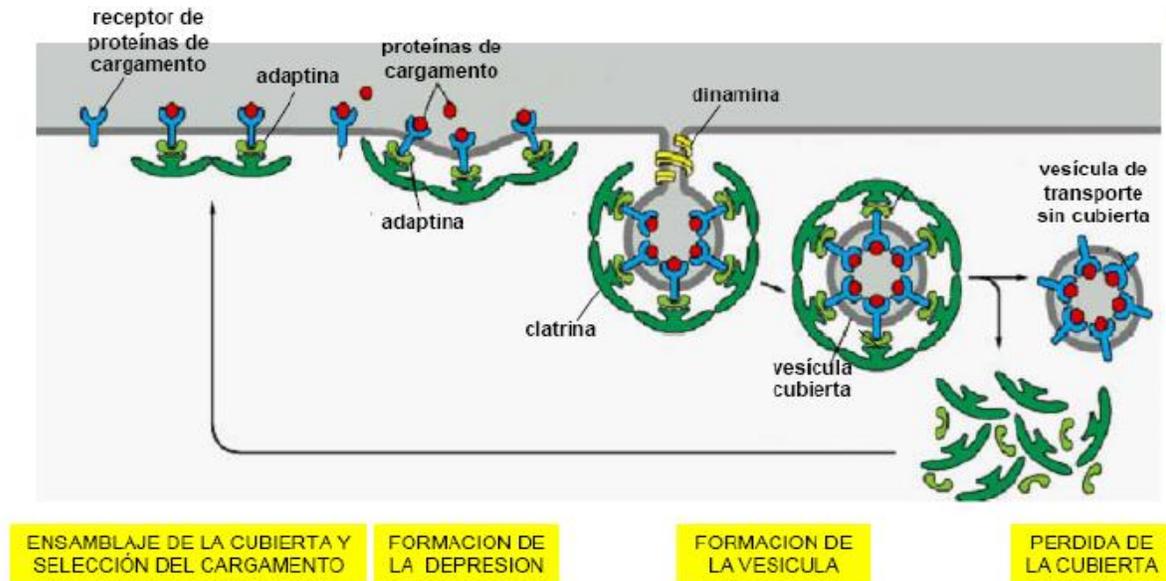
La clatrina es una proteína formada por tres cadenas pesadas y tres cadenas ligeras ordenada en forma de tres pies. Esta estructura se denomina trisquelión (figura geométrica formada por tres brazos en espiral que convergen al centro, en una especie de triángulo). Las tres cadenas ligeras interactúan con las cadenas pesadas en el carbono terminal.

**Figura 26.** Estructura de la clatrina y su forma de ensamble para formar vesículas. Recuperada y modificada de: <http://image.slidesharecdn.com/transportemembrana-120512174324-phpapp02/95/transporte-membrana-22-728.jpg?cb=1336845302>



Su función principal es recubrir las vesículas en el proceso de transporte entre membranas. La formación de vesículas recubiertas de clatrina tiene cuatro estados: la preparación, el ensamblaje, la liberación y el desrevestimiento. El papel que juegan en el transporte de la brana es, que los trisqueliones unidos a la membrana provocan la invaginación de esta dando lugar a vesículas. Cuando se produce la gemación de una vesícula, la clatrina se desprende de su unión a la membrana con la ayuda de una proteína llamada dinamina, un tipo de ATP asa. Una vez la vesícula está libre de clatrina puede fusionarse la membrana al extremo opuesto de la membrana o puede unirse a los lisosomas celulares, como se muestra en la figura 27.

**Figura 27.** Endocitosis mediada por clatrina. Recuperada y modificada de: [http://images.slideplayer.com/1/85404/slides/slide\\_36.jpg](http://images.slideplayer.com/1/85404/slides/slide_36.jpg)



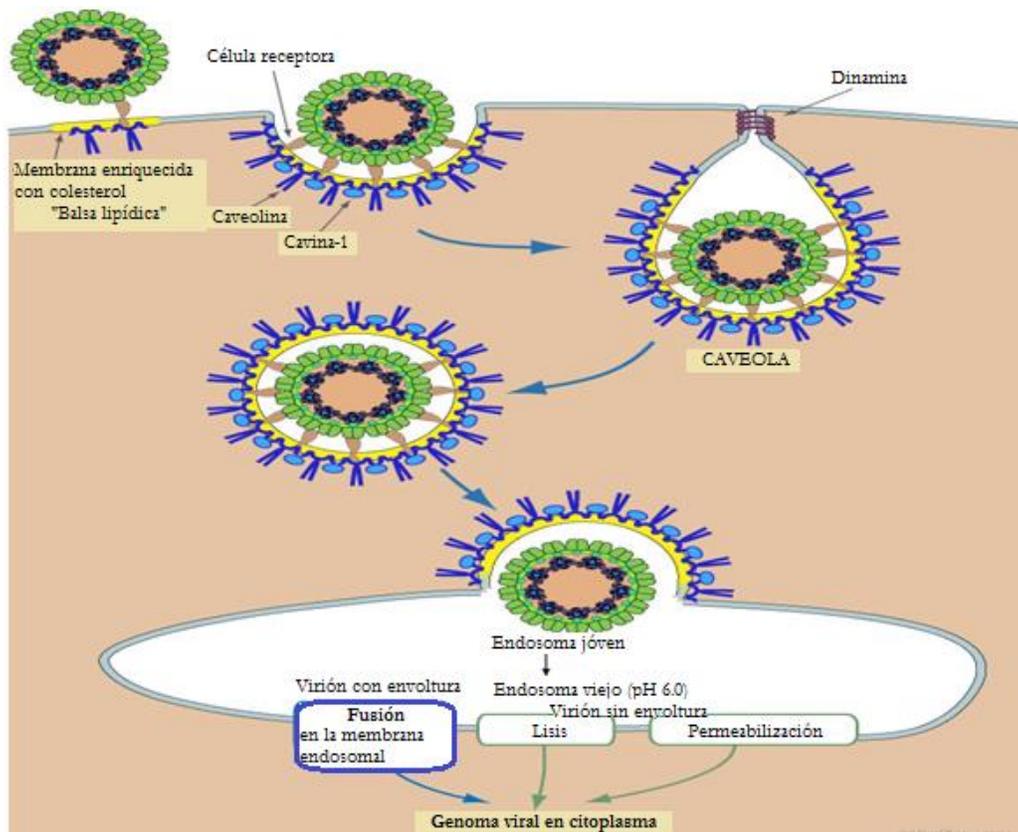
La endocitosis caveolar como su nombre lo indica se realiza por medio de una estructura membranal denominada caveola a diferencia de la endocitosis mediada por clatrina esta es más estable y favorece la transcitosis. Además las vesículas recubiertas por clatrina se acidifican y esto puede desestabilizar a los nanocarreadores. La endocitosis mediada por clatrina se ve favorecida con un tamaño de partícula menor a 200nm mientras que la caveolar sucede con tamaños más grandes (500nm).

Las caevolas son balsas lipídicas especiales ricas en colesterol,  $\beta$ -D-Galactosa, N-acetilglucosamina, ácido palmitoléico, ácido esteárico, esfingomielina, glucoesfingolípidos y la proteína caveolina. Existen 3 isoformas de caveolina, pero sólo cav-1 y cav-2 (21- 24 kDa) se expresan en el cerebro. Las caveolas están implicadas en procesos celulares muy diversos y contiene una gran cantidad de proteínas superficiales, como receptores para: factor de crecimiento derivado de las plaquetas, LDL y HDL, VEGF, bradicinina B2R, endotelina ET<sub>A</sub>,

estrógenos  $\alpha$  y  $\beta$ , EGF, TNF, Albúmina, transferrina, melanotransferrina, lactoferrina, ceruloplasmina, transcobalamina, leptina, insulina.

Este tipo de endocitosis es independiente de clatrina; su formación y mantenimiento se debe principalmente a la proteína caveolina. La presencia de esta proteína membranal de 21kDa conduce a cambios morfológicos en la membrana que generan la invaginación de aproximadamente 70nm. Se ha asociado distintas funciones para las caveolas incluyendo la transcitosis, también en la regulación de colesterol, etc. Se ha observado que algunos virus y algunas bacterias (algunas cepas de *Escherichia coli*) son capaces de emplear el mecanismo caveolar para su ingreso a la célula.

**Figura 28.** Transcitosis mediada vía caveolar. Recuperado y modificado de: <https://elipticas.files.wordpress.com/2013/07/familiar21.jpg>



---

---

Los receptores presentes en las caveolas confieren una oportunidad magnífica para acceder al cerebro empleando nanoacarreadores con elementos de dirección enfocados en esta conyuntura.

En cuanto al transporte mediado por la adsorción, debemos conocer que la superficie de la membrana plasmática de los capilares del cerebro está cargada negativamente a pH fisiológico debido a la presencia de proteoglicanos, mucopolisacáridos y glucolípidos que contienen sulfatos y ácidos siálicos. El transporte por adsorción se produce como resultado de una interacción electrostática entre la parte del péptido cargada positivamente y la región de la superficie de la membrana plasmática cargada negativamente. Este tipo de transporte es saturable y no específico, y se produce a un nivel muy pequeño, bajo condiciones fisiológicas. Debido a estas propiedades, el transporte mediado por adsorción se ha intentado implementar como estrategia para mejorar la administración de péptidos y proteínas dirigidas al cerebro. Las moléculas que penetran la BHE por adsorción incluyen varias proteínas catiónicas, como la protamina, la polilisina, la albumina glucosilada, la histona y la avidina. (Loch-Neckel y Koepp, 2010).

Para cationizar una proteína se puede emplear hexametildiamina este reactivo convierte los ácidos carboxílicos en grupos amino primario ( $-NH_2$ ). Experimentalmente se ha observado que el punto isoeléctrico óptimo es entre 8 y 9 para favorecer un transporte dirigido al cerebro por adsorción (empleando Albúmina de suero bovino cationizada, CBSA, se logró un incremento de 7.8 veces). Ya que un valor de 10 o mayor decrece drásticamente su tiempo de residencia, el tiempo de vida media se reduce a 1 min. Estas proteínas cationizadas también presentan problemas inmunogénicos, y esto sucede más cuando son proteínas heterólogas que cuando son homólogas, es decir, cuando la proteína proviene de otra especie. También debemos recordar que la endocitosis mediada por adsorción sucede también en riñones, hígado y en menor cantidad en pulmones y miocardio (Patel *et al.*, 2011).

---

---

### 3.2.4 Alteraciones en la permeabilidad de la Barrera Hematoencefálica

Se han descrito cambios en la función de la BHE en varios trastornos neurológicos, incluidos inflamación, infección, traumatismos y tumores cerebrales, no solo como uno de los últimos acontecimientos, si no que se considera su implicación en las primeras fases de evolución de algunas enfermedades. Por lo que se convierte fundamental comprender los procesos patogénicos que comprometen la integridad de la BHE al intentar establecer una terapia farmacológica adecuada. Entenderemos que existen varios mecanismos por los que se puede afectar la permeabilidad de la BHE, la tabla 2 enlista las complicaciones que comprometen la permeabilidad de la BHE clasificándolas según el mecanismo de la complicación.

**Tabla 2.** *Enfermedades que comprometen la integridad de la BHE (Kim et al. 2006)*

<b>Mecanismo</b>	<b>Afecciones del Sistema Nervioso Central</b>
Neoplásico	Cáncer primario o metastásico
Vascular	Hemorragia, isquemia, hipertensión, malformación vascular.
Edematoso	Edema vasogénico o citotóxico
Metabólico	Diabetes o algún tóxico
Inflamatorio	Esclerosis múltiple, meningitis o encefalitis
Traumatismo	Lesiones con origen: térmico, mecánico, químico, por radiación.

**Tumores Cerebrales.** Se observaron cambios estructurales, como la pérdida de expresión de proteínas, por ejemplo, la claudina-3 y la ocludina, en algunos modelos experimentales de

---

---

glioma en animales, así como en tumores primarios en seres humanos. (Ying et al, 2010). El nivel de expresión de la ocludina disminuye proporcionalmente con el aumento de la gravedad del tumor. Hay un aumento del número y el tamaño de las vacuolas pinocíticas, y también se ha notificado un descenso de la expresión de los transportadores en las células endoteliales que forman la vasculatura del tumor. Se ha postulado que el uso de quimioterapia es limitado debido al hecho de que la BHE restringe la acumulación de agentes citotóxicos convencionales en concentraciones terapéuticas en el tumor y la zona peritumoral. Solo los agentes alquilantes altamente liposolubles y de bajo peso molecular, como nitrosoureas o temozolamida, son capaces de penetrar en la BHE para llegar a los tejidos cerebrales afectados.

La acumulación de fármacos en los tumores cerebrales es limitada, incluso ante la presencia de la BHE dañada, debido a la alta presión del líquido intersticial, que reduce la propagación de los medicamentos en el tejido tumoral, así como la difusión hacia el tejido cerebral circundante externo. (Loch, Neckel y Koepp, 2010).

**Inflamación.** La pérdida de la integridad de la BHE y el aumento de la permeabilidad de la membrana endotelial están asociados a la presencia de citocinas vasoactivas como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), interleucina 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), interferón- $\gamma$  e histamina. Las MAI pueden sustentar el reclutamiento de leucocitos y promover el movimiento de estas células a través de las uniones modificando la permeabilidad. Las metaloproteinasas (MMP-2 y MMP-9), enzimas proteolíticas dependientes de un metal. Además de alterar la permeabilidad de la BHE, los factores proinflamatorios también pueden inducir la generación de muerte neuronal y astrocitaria (Omidi y Barar, 2012). Algunas enfermedades inflamatorias están asociadas a cambios en la expresión de proteínas como la ZO-1 y la ocludina. En la práctica clínica, los corticoides son los fármacos de elección en el tratamiento de las neuroinflamaciones, ya que disminuyen la apertura de la BHE, desafortunadamente los esteroides producen

---

---

inmundeficiencia, mientras que los agentes capaces de reducir el paso de inmunocitos a través de la barrera, como el interferón-1 $\alpha$ , el interferón-1 $\beta$  y el acetato de glatirámico, se utilizan en el tratamiento de la esclerosis múltiple. (Loch-Neckel y Koepp, 2010).

**Infecciones.** Ante la presencia de la BHE intacta, muchos microorganismos quedan excluidos del cerebro. Sólo unos pocos patógenos pueden atravesar la BHE por vía transcelular, paracelular o por fagocitos infectados, y causar así infecciones en el SNC.

Los estudios en seres humanos y en modelos animales relacionan la magnitud del desarrollo de bacteriemia con la meningitis y se ha demostrado que la interacción de microorganismos con el receptor de células endoteliales de la BHE es un paso importante en la patogenia de la meningitis.

En la infección del SNC con *Mycobacterium tuberculosis*, se ha observado la implicación del receptor de manosa en la internalización de la bacteria. (D'Addio *et al.*, 2013). Algunas micobacterias inducen, mediante la liberación de lipopolisacáridos o toxinas, la secreción de citocinas y factores inflamatorios (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , MMP, factor transformante del crecimiento  $\beta$ 1, caspasas) que aumentan la permeabilidad endotelial. (Loch-Neckel y Koepp, 2010).

También se ha comprobado que el ingreso del virus de la rabia al SNC lo realiza mediante los receptores nicotínicos (Liu *et al.*, 2009).

Parece que los hongos, como *Cryptococcus neoformans*, son interiorizados por las células endoteliales de la microvasculatura cerebral pero no se modifica la permeabilidad de BHE.

Otro hongo común en la meningitis, *Candida albicans*, al parecer, cruza las células endoteliales mediante transcitosis y tampoco modifica la integridad de la BHE.

---

---

La entrada de algunos virus en SNC se produce a través de los nervios olfativos, la medula espinal o nervios periféricos, aunque la penetración del virus de inmunodeficiencia humana (VIH) se puede lograr mediante monocitos infectados o mecanismos de endocitosis en respuesta a la liberación de citocinas. Los estudios inmunohistológicos *post mortem* han puesto de manifiesto que en la encefalitis por VIH había una disminución de la expresión de la claudina-5 y la ocludina en el endotelio cerebral. (Patel *et al.*, 2011). A veces, se utilizan corticoides para disminuir el daño inflamatorio en las infecciones, pero pueden restablecer la integridad de la BHE, disminuyendo así la concentración de antibióticos y dificultando la eliminación de los patógenos del SNC.

**Enfermedades Degenerativas.** Estas enfermedades, como la de Alzheimer y Parkinson, también pueden provocar cambios en la permeabilidad de la BHE. Se cree que los componentes celulares de la respuesta inflamatoria pueden contribuir mucho al aumento del área de la lesión secundaria en las enfermedades neurodegenerativas agudas y crónicas. El estrés oxidativo generado en el cerebro puede provocar cambios en la BHE, potencialmente muerte celular, gliosis y cambios en la señalización, los cuales están relacionados con el envejecimiento y el aumento de la expresión de la proteína precursora amiloidea, por la aparición de un metabolismo anormal. Parece que los cambios en esta afección se deben a factores vasculares, degeneración celular y señalización anormal. Por lo tanto, la alteración de la BHE puede acelerar los acontecimientos de la enfermedad y dar como resultado un círculo vicioso.

En la enfermedad de Parkinson, hay una apertura transitoria de la BHE asociada a la secreción de mediadores inflamatorios, aunque la mayor parte del daño se produce en la BSLCR. En cualquier caso, parece que la inflamación, como un mecanismo patógeno en la enfermedad de Parkinson, es causante del aumento de la permeabilidad de la BHE. (Loch-Neckel y Koepp,

---

---

2010). Además, el envejecimiento se relaciona con cambios en la anatomía de la BHE y una disminución de los mecanismos de extrusión.

**Isquemia.** La isquemia cerebral conlleva una reducción de la circulación sanguínea, y la disminución de oxígeno (hipoxia) y nutrientes fundamentales, este hecho se relaciona con un aumento de la permeabilidad vascular.

La isquemia e hipoxia conducen a cambios en la integridad de la BHE después de un traumatismo y el posterior estado de shock. La integridad de la BHE varía de acuerdo con el mecanismo, la gravedad y la duración del acontecimiento que causa la isquemia cerebral. Durante un accidente cerebrovascular (ACV) de tipo isquémico en fase aguda, la BHE sufre un cambio rápido durante las tres primeras horas. La permeabilidad de la barrera hematoencefálica aumenta después de la isquemia, alcanzando el punto culminante a las 48 horas, y disminuye al cuarto día. La disfunción endotelial es causante de este aumento de la permeabilidad durante la isquemia cerebral y provoca la extravasación de los componentes del plasma y la formación de edemas. La activación de una angiogénesis microvascular es de los primeros acontecimientos generados durante la isquemia. En cualquier caso, el aumento de la permeabilidad de las células endoteliales se ve afectado por el estrés oxidativo generado, asociado a la fosforilación de la tirosina de proteínas en las uniones estrechas, especialmente la ocludina y la ZO-1. (Loch-Neckel y Koepp, 2010). Sin embargo, las células astrocitarias protegen la BHE de enfermedades isquémicas segregando factores neurotróficos y restaurando la función de la barrera de las uniones estrechas. La disfunción endotelial produce un aumento de la permeabilidad durante la isquemia cerebral, dando lugar a una fuga de componentes del plasma y a la formación de edemas. Los cambios en la permeabilidad de la BHE pueden representar una oportunidad para la administración de fármacos al SNC. Sin embargo, la permeabilidad de la BHE después de una lesión aguda puede seguir un patrón heterogéneo. Además, la

---

---

circulación sanguínea en las zonas isquémicas disminuye, lo que puede dar lugar a una concentración limitada del medicamento en la zona deseada.

Diversas enfermedades alteran la composición y permeabilidad de la BHE en grado variable y progresivo. Esto también tiene una variación entre individuos. Pero definitivamente estas alteraciones pueden modificar posología (dosis), eficacia y efectos secundarios.

### 3.3 GENERALIDADES SOBRE NANOTECNOLOGÍA EN MEDICINA

La investigación en nanomedicina está rápidamente potenciando tecnologías y revolucionando las estrategias en la práctica clínica al ofrecer acceso a nanosistemas innovadores enfocados en el diseño racional y la integración precisa de conocimientos del área química, biológica e ingeniería.

Las nuevas herramientas en diagnóstico nanotecnológico podrán ofrecer información crucial respecto al estado de tejidos y órganos enfermos (*v.gr.* cancerosos) de forma rápida y económica, con mínima invasividad, volumen y número de muestras. En base a lo anterior, las nuevas estrategias en nanomedicina preventiva, diagnóstica y terapéutica, permitirán a los médicos emprender acciones efectivas, lo menos agresivas para el paciente y de manera oportuna. (Brewer *et al.*, 2007).

#### 3.3.1 Nanotecnología en: imagen, diagnóstico, tratamiento, seguimiento terapéutico y medicina regenerativa

Existen enfermedades complicadas en su tratamiento, no solamente debido a la disponibilidad del activo en su sitio de acción, sino porque se dificulta el poder delimitar la zona afectada o realizar un diagnóstico oportuno. La mayoría de estas complicaciones se presentan cuando hablamos de un padecimiento del SNC. La función de una nanopartícula no se detiene en la

---

---

construcción de un vehículo farmacéutico que protege al principio del ambiente y controla su liberación espacial y/o temporal, hoy en día se investigan múltiples aplicaciones para la nanotecnología en la medicina que van, desde: técnicas de imagen por resonancia magnética, construcción de estructuras nanobiomiméticas, moldes para regeneración de tejido, estructuras con formas y funciones diseñadas según se requiera, nanoreservorios de fármacos, etcétera.

La obtención de imágenes desde el nivel del organismo hasta el nivel celular es importante en el diagnóstico y la planificación del régimen terapéutico. Los nanoreservorios funcionalizados pueden contener, transportar y distribuir isotopos radiactivos, radiofármacos o sustancias con propiedades ópticas de manera específica para la obtención de imágenes. La obtención de imágenes *in vivo* puede realizarse con el uso de técnicas de imagen que ya existen, como la tomografía computarizada por emisión de fotón único (SPECT), la tomografía por emisión de positrones (PET), la resonancia magnética (RM), el microscopio de fluorescencia, la tomografía computarizada (TC) y la ecografía. Las NP superparamagnéticas de óxidos metálicos de hierro y de cobalto en el diagnóstico clínico son prometedoras como medios de contraste en RM. Otras NP de interés son el oro coloidal y los puntos cuánticos (QD). El oro coloidal puede utilizarse para mejorar las técnicas de imagen existentes: marcaje de sistemas biológicos *in vitro*, tecnología con sondas de barrido y mediciones de transferencia de energía por resonancia con fluorescencia.

A diversos nanoacarreadores se les puede unir de manera covalente o no covalente elementos en su superficie con propiedades ópticas. (Li *et al.*, 2012)

Recientemente, se ha descrito la utilización de liposomas marcados con  $^{99}\text{Tc}$  en la SPECT de tejidos de cáncer de mama humano en los que se mantiene la sobreexpresión de receptores de péptido intestinal vasoactivo. Con las técnicas de imagen utilizaron liposomas estéricamente

---

---

estabilizados para encapsular la hexametilpropilamina oxima marcada con  $^{99}\text{Tc}$  que se observó que se acumulaba menos en el tejido de mama sano que en el tejido de mama canceroso, con o sin la presencia de VIP unido de forma covalente. Además, cuando los liposomas eran de un tamaño adecuado, no se producía extravasación en el tejido de mama normal. Por tanto, se produjo una acumulación significativa del contraste en el tejido anormal en comparación con el normal. (Brewer *et al.*, 2007).

Los dendrímeros suelen ser complejos poliméricos, muy ramificados, con un núcleo central que tiene un gran peso molecular, de 1.000 a 800.000 kDa. Debido a la ramificación, los dendrímeros pueden estar muy funcionalizados en cada generación de ramas para poseer el potencial de acoplamiento con hidratos de carbono, péptidos y silicio. Los sistemas de transporte dendríticos están limitados como consecuencia de la toxicidad asociada por cargas positivas de superficie e inmunogenicidad, especialmente en los dendrímeros de peso molecular más alto.

Los sistemas de dendrímeros a escala nanométrica transportadores de Gd como agente de contraste también se encuentran en fases preclínicas de estudio. Se ha demostrado el desarrollo de dendrímeros y sistemas de dendrímeros con un peso molecular menor de 60 kDa para transportar medios de contraste con Gd para RM, con el fin de reducir los tiempos de retención y eliminar la toxicidad problemática de sus homólogos de mayor PM. Se ha documentado la excreción por el sistema renal y las mejores imágenes de estructuras vasculares por un descenso de la extravasación, más rápida que el Gd-DTPA (complejo entre Gadolinio y el ácido dietilentriaminopentacético) comúnmente utilizado. (Li *et al.*, 2012).

Los puntos cuánticos (QD, por sus siglas en inglés) son nanopartículas con posible importancia en el diagnóstico y el tratamiento en nanomedicina. Formados por unos pocos centenares de

---

---

átomos de elementos de los grupos II-VI ó III-V, éstos cristales semiconductores suelen encontrarse en el rango de 1 a 10 nm de diámetro. Emiten en la región del espectro entre ultravioleta (UV) e infrarrojo cercano (NIR) y tienen propiedades que no son frecuentes en los colorantes orgánicos y las proteínas fluorescentes. Los QD tienen, calidades fotoluminiscentes sintonizables. La sintonía es el proceso de seleccionar la longitud de onda de emisión, ajustando el PM y composición. Por tanto, los QD tienen la posibilidad de marcar sistemas biológicos para la detección óptica o eléctrica en la obtención de imágenes de enzimas, antígenos y células. Una de las aplicaciones más prometedoras de los QD es la detección y el diagnóstico de cánceres *in vivo*. Se cree que la obtención de imágenes desde el nivel celular de órganos y tumores es potencialmente posible con los QD. Los QD del infrarrojo cercano tienen la ventaja de penetrar más profundamente en los tejidos y, por tanto, pueden detectar y obtener imágenes de objetos que, por lo demás no se detectarían por QD que emiten sólo en el rango visible. La flexibilidad y adaptabilidad de los QD los hacen viables en múltiples aplicaciones de detección, especialmente en la detección de biomarcadores del cáncer. Los QD pueden unirse de forma covalente a las inmunoglobulinas para utilizarlos en ensayos fluorescentes para detectar antígenos y otros biomarcadores, como Her2 en células cancerosas. Siendo mejores que las moléculas fluorescentes habitualmente utilizadas que tienen poca estabilidad frente al fotoblanqueamiento, los QD tienen una mejor relación señal/ ruido y, por tanto, una mejor intensidad o sensibilidad de detección de señales.

En cuanto a los nanotúbulos de carbón (NTC) sus aplicaciones están basadas en sus propiedades físicas, como su excelente conductividad eléctrica y térmica, junto con su rigidez. Las aplicaciones de los NTC más comunes son para biodetección y liberación de fármacos.

Las plataformas de micromatrices utilizadas habitualmente para las detecciones han mejorado para detectar límites inferiores y un abanico más amplio de biodianas. La literatura está llena

---

---

de estudios de nuevos sistemas de detección configurados para dirigirse a dianas específicas extracelulares e intracelulares. Recientemente, las NP se han utilizado para detectar anticuerpos, ácidos nucleicos, agentes proinflamatorios y antioxidantes.

Otro sistema de nanodetección es el empleo de un sensor de oxígeno nuevo. El desarrollo de un sensor, denominado biosensor de especie reactiva de oxígeno (ROS), es una nueva estrategia de biodetección para localizar células que sufren estrés oxidativo. El biosensor se utiliza para activar y estimular las secuencias de reparación de ADN en la célula. (Brewer *et al.*, 2007).

Los alcances de la nanomedicina pretenden satisfacer los retos que han surgido durante la implementación de una terapia farmacológica; haciendo hincapié en la biodisponibilidad, solubilidad, estabilidad química y la posibilidad de disminuir los efectos adversos. (Pascual *et al.*, 2004)

**Terapia Génica.** El empleo de nanopartículas también habilita el acceso al núcleo para poder entregar segmentos de ADN con la finalidad de poder reemplazar genes alterados. Dicha habilidad supone nuevas e interesantes perspectivas para el tratamiento de numerosas enfermedades neurológicas para las cuales no existen más que en tratamiento sintomático. En los últimos años se ha producido un giro espectacular en las estrategias para la transferencia génica no invasiva en el sistema nervioso central. El desarrollo de nanoacarreadores funcionalizados permite introducir y expresar material génico en el tejido nervioso tras la administración periférica de dichos vectores.

Entonces, la terapia génica puede considerarse como de los proyectos más importantes para la humanidad y su futuro, debido a que intenta combatir la enfermedad en sus propias causas de origen hereditario y genéticas en general. Aunque, si se desea que el futuro de la terapia génica

---

---

sea competir con el tratamiento farmacológico clásico, será necesario disponer de métodos económicos, simples y eficaces de transferencia génica.

Para que se pueda llevar a cabo una transferencia génica exitosa se requiere de un vehículo con las características adecuadas para poder transferir el gen terapéutico al tejido o tipo de células requerido. Estos vectores se pueden clasificar en a) virales y b) no virales (Schaefer, 2010).

Si consideramos que un virus requiere del mecanismo biosintético de la célula y conocemos las estructuras del virus relacionadas con su patogenicidad. Entonces es posible modificarlos para disminuir el grado de virulencia y emplearlos como vehículos en una terapia génica. Los vectores virales empleados comprenden adenovirus, retrovirus, virus del herpes simplex y lentivirus. Cada vector viral tiene características particulares, como son la preferencia para reconocer y transferir su material genético a un tipo particular de célula. Los vectores virales empleados para dirigir una terapia génica al cerebro son los lentivirus, herpes simplex y los virus adenoasociados. Algunos vectores virales inducen una respuesta inmune que disminuye la eficacia y bioseguridad con una administración repetida. Una complicación adicional del uso de algunos vectores virales es su tendencia a integrarse cerca de promotores (regiones de ADN que controlan la actividad de genes específicos). Esto conllevaría la aparición de efectos adversos, evento no deseado en cualquier tipo de terapia. Por esta razón se ha investigado la fabricación de vectores no virales, cuya actividad inmunogénica no sea una complicación. Desafortunadamente, los vectores no virales presentan problemas para la expresión prolongada del gen y también presentan problemas para presentar al gen en el interior de la célula.

Debido a los efectos colaterales que presentan los vectores virales, el objetivo real está en conseguir una terapia génica, eficiente, no invasiva y no viral para el cerebro.

---

---

Algunos de los nanoacarreadores empleados como vectores de transferencia génica no viral son: liposomas, nanopartículas poliméricas, dendrímeros, fullerenos (favorece terapia mitocondrial).

La nanotecnología puede resolver el problema de selectividad en la terapia génica, es decir, que el transgén llegue sólo a las células que lo necesitan.

**Medicina regenerativa.** La regeneración e ingeniería tisular se está haciendo realidad con los recientes avances en el campo de la ingeniería de materiales nanoestructurados. Esta área interdisciplinaria de investigación se centra en el crecimiento y la sustitución de una célula, tejido u órgano.

La ingeniería biomimética muestra cierta esperanza en la creación de implantes biológicos, como sustitución de vasos sanguíneos con malformaciones artroplastias (reconstrucción quirúrgica de una articulación), y en hacer posible la fabricación de matrices o soportes extracelulares artificiales que son necesarios para apoyar y mantener el crecimiento y la regeneración celular durante la reparación tisular.

El uso de soportes para hacer crecer células madre en tejidos y órganos requiere un aporte de células prototipo sanas que puedan sufrir una morfogénesis, especializarse y convertirse en un tejido específico. Las células madre, por su inclinación a diferenciarse en casi todos los tipos de células, son candidatas ideales a ocupar los soportes y acabar convirtiéndose en tejido nuevo (Schaefer, 2010).

Las células madre embrionarias (células internas de un embrión de 4 a 5 días de edad que pueden dividirse y diferenciarse a cualquier tipo de tejido, también se les llama células madre totipotenciales) pueden diferenciarse para formar células de cerebro, piel o corazón.

---

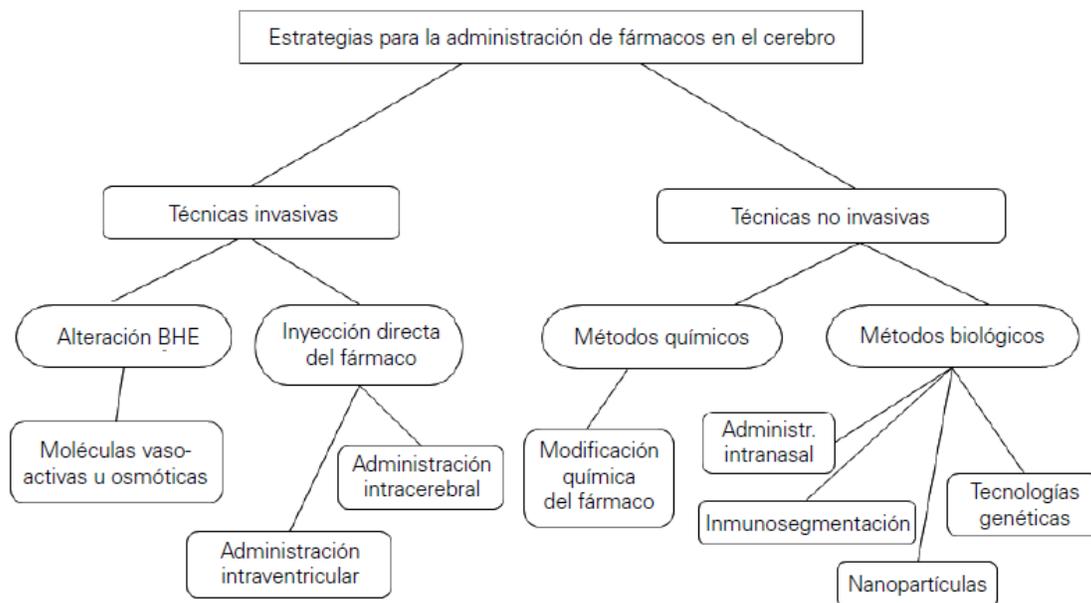
---

El crecimiento de tejido duro y blando, incluyendo órganos, es un sueño médico que, poco a poco, se está haciendo realidad gracias a la incursión de la nanotecnología en la medicina. En el futuro, los trasplantes de órganos podrían realizarse sin un período de espera largo, dado que podrían conservarse órganos de repuesto, de forma muy parecida a las piezas de repuesto de los automóviles.

### 3.3.2 Nuevas entidades químicas ó Nanoacarreadores funcionalizados para acceder al SNC.

El principal camino de la investigación farmacéutica actual comprende la formación de nuevas entidades químicas a partir de los medicamentos empleados en diversas afecciones o a partir de la estructura química de las sustancias endógenas afectadas por determinada enfermedad (*v.gr.* Parkinson). Lamentablemente sólo cerca del 5% de moléculas investigadas sale al mercado. Y posteriormente en la etapa de farmacovigilancia se dan a conocer la mayoría de las reacciones adversas a la medicación (RAM). Por ende el empleo de nanoacarreadores debiese considerar moléculas que ya se conozca bien sus efectos terapéuticos y sus efectos adversos. El empleo de NP disminuye las RAM pero también podría ocultarlas siendo más peligroso lo desconocido, enfocándonos en el SNC, se han desarrollado otro tipo de estrategias que no implican el uso de nanopartículas para su desarrollo. El siguiente esquema ilustra las distintas técnicas empleadas.

**Figura 29.** Diagrama que ilustra las distintas estrategias empleadas para acceder al SNC.  
(Loch-Neckel y Koepp, 2010)



**Abatimiento de la BHE.** Con este fin se han empleado soluciones hiperosmóticas y la coadministración de sustancias que incrementen la permeabilidad (leucotrieno C4, bradicina, serotonina e histamina). También se ha investigado el empleo de resonancia magnética sola (Chertok, 2011 y Cole, 2011) y en conjunto con ultrasonido focalizado (Omidi y Barar, 2012); lo que conlleva a una disrupción temporal y reversible de la barrera hematoencefálica. Más adelante se profundizará en las técnicas acotadas anteriormente.

La solución hiperosmótica, desarrollada por Neuwelt *et al* (Loch y Koepp, 2010), fue una de las primeras soluciones que se utilizaron en seres humanos. Su fundamento consiste en que la deshidratación osmótica de las células genera una disminución en su tamaño y por ende una mayor permeabilidad paracelular. Esta técnica todavía se usa en la práctica clínica diaria para la liberación de quimioterapia en pacientes con tumores cerebrales, pero este método provoca más efectos secundarios y la liberación no intencionada de antineoplásicos en el tejido cerebral

---

---

normal, incrementa permeabilidad en algunos tipos de tumores cerebrales, se ha observado que en el proceso de angiogénesis tumoral no existen uniones densas.

Sin embargo, la apertura de la barrera no es un método específico para liberar medicamentos, ya que conduce a un aumento de las moléculas potencialmente tóxicas y hace que el cerebro sea vulnerable a las infecciones y las toxinas incluso durante periodos breves.

Estudios donde se empleó una solución hiperosmótica de manitol vía la arteria carótida evidenció el daño a estructuras debido a la filtración de proteínas, también se observó alteración del metabolismo de glucosa, activación de las proteínas de choque térmico, microembolias y funcionamiento neuronal anormal.

**Inyección Directa.** A pesar los grandes riesgos que conlleva ésta técnica se han realizado múltiples intervenciones de este tipo en diferentes enfermedades, pero con resultados muy pobres o ineficaces. El principal obstáculo de este método es el coeficiente de difusión limitada asociado al movimiento lento de los componentes en el cerebro. La difusión del fármaco en el cerebro depende de la concentración en el lugar de liberación del medicamento, el peso molecular, la liposolubilidad, presencia de y la afinidad a los tejidos. Para las moléculas grandes, como los anticuerpos monoclonales, la velocidad de difusión tras la inyección suele ser menor que la velocidad de eliminación local.

La inyección se puede realizar en el parénquima cerebral así como directamente a los ventrículos cerebrales. Algunos investigadores consideraron que la administración intraventricular solucionaría el aspecto de distribución de fármaco en el tejido, pero el líquido cefalorraquídeo (LCR) se renueva completamente en 5-6 horas (Pascual *et al.*, 2004).

En la práctica, este método sería eficaz para medicamentos en los que el lugar de acción está cerca de la superficie del parénquima o los ventrículos; pero si consideramos en el panorama la

---

---

necesidad de una intervención quirúrgica disminuye considerablemente la practicidad de esta técnica y aumentan enormemente los riesgos. A pesar de lo prometedora que parece la estrategia la difusión en el parénquima es muy pobre y todas las técnicas que implican el bombeo del fármaco directamente al cerebro o a un ventrículo generalmente tienen resultados desalentadores.

En cuanto a las técnicas empleadas para acceder al SNC no invasivas podemos encontrar gran cantidad de estudios implicados con mejorar determinadas características de un fármaco (tamaño, capacidad de ionizarse, lipofilicidad, disminuir afinidad por sistemas de eflujo, aumentar su afinidad a transportadores, etcétera) mediante su modificación química (Desino, 2008).

Otras técnicas no invasivas son el uso de anticuerpos también conocido como inmunosegmentación (el anticuerpo monoclonal OX26 reconoce específicamente al receptor de Transferrina; Béduneu *et al.*, 2008), la administración vía intranasal (Haque *et al.*, 2012), el empleo de proteínas (como las nanopartículas virales; Liu *et al.* 2009) y , la razón de este trabajo, el empleo de nanopartículas para construir vehículos multifuncionalizados que penetren eficazmente al cerebro y que se acumulen selectivamente en el sitio deseado.

**Modificación Química.** La modificación química se suele diseñar para sustituir una deficiencia en las propiedades fisicoquímicas, como el aumento de la lipofilicidad, o minimizar el potencial de unión al hidrogeno. De este modo, la esterificación o amidación de los medicamentos que contienen grupos hidroxilos o aminoácidos podrían aumentar la solubilidad y, por tanto, facilitar su entrada al cerebro. Se puede emplear el parámetro de log P para predecir la permeación de los fármacos a través de la BH; un valor de log P de 2 se considera óptimo para su migración por difusión pasiva, aunque algunos autores aceptan el intervalo de 1.5- 2.5.

---

---

Aunque un incremento en el log P no solo se traduce como un aumento de la constante de absorción vía difusión pasiva, también resultará en una mayor distribución en tejidos periféricos (incremento de volumen de distribución) lo que resulta en una disminución de la concentración de fármaco libre en sangre (Omidi y Barar, 2012).

Cannon *et al* (2012), descubrieron que la actividad de la glicoproteína-P se ve reducida cuando el mensajero esfingosina 1- Fosfato (S1P, por sus siglas en inglés) actúan sobre el receptor 1 de Esfingosina 1 Fosfato 1 (S1PR1); sin modificar la expresión de proteínas responsables de las uniones estrechas o enzimas. Emplearon análogos de la esfingosina fosforilada FTY720P y FTY729P, para inactivar la glicoproteína-P y después administraron fármacos (marcados con un isótopo radiactivo) que se sabe son sustratos de la glicoproteína-P. El resultado ocurrió según lo esperado al obtenerse concentraciones mayores al grupo control; siendo la concentración de paclitaxel y loperamida 5 veces mayor al control y de verapamilo 3 veces mayor.

La señalización de TNF- $\alpha$  activa la producción de Esfingosina-1 Fosfato a través de la enzima Esfingosina Cinasa (SK).

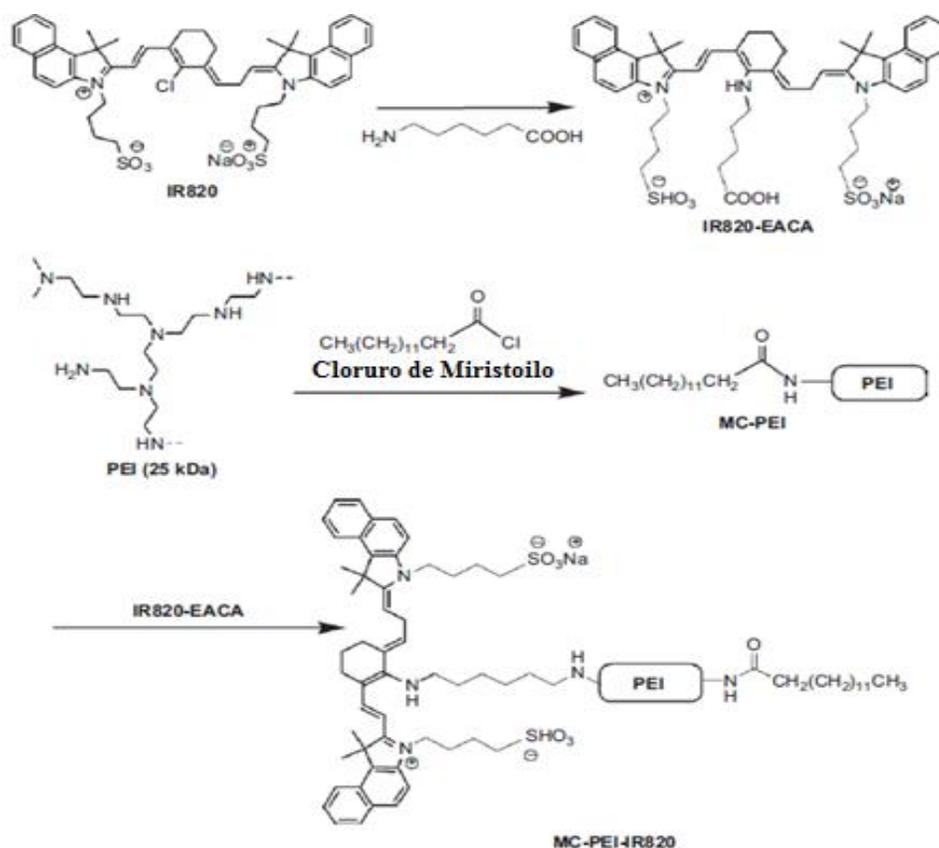
La S1P es la responsable total de la inhibición de la glicoproteína P, ya que se experimentó colocando un inhibidor de la SK y/o un antagonista del receptor S1PR1; Para demostrar que a pesar de la influencia de el TNF- $\alpha$  se necesitaba estimular la producción de esfingosina 1 fosfato, y que la actividad intrínseca de ésta en el receptor S1PR1 inactiva la glicoproteína P de manera reversible, pero con un efecto que puede ser prolongado.

Por lo tanto, al estimular el S1PR1 con los análogos de esfingosina se puede abatir rápida y reversiblemente la actividad de transporte de la glicoproteína P con la finalidad de incrementar

la entrada de pequeñas moléculas (fármacos de bajo peso molecular que migran por difusión pasiva transcelular) con un fin terapéutico (Cannon *et al.*, 2012).

Existe una propuesta de Meng *et al.* (2010), donde se conjugan 3 partes importantes mediante uniones covalentes. Esta estrategia involucra el fármaco o marcador, la polietilenimina (cuya carga positiva facilita la unión no selectiva a moléculas con carga negativa, como el ácido siálico de la membrana y el ADN) y el ácido mirístico para vectorizar al cerebro. Porqué el ácido mirístico puede ser sustrato del transportador ABCD 1 (ALDP) ó ABCD 2 (ALDRP) como se muestra en la tabla 1.

**Figura 30.** Fabricación de un “caballo troyano” que emplea al ácido mirístico unido covalentemente como ligando de dirección para incrementar su absorción a nivel BHE. (Meng, 2010)



---

---

A este tipo de conjugado se le ha denominado caballo troyano molecular, en donde el principio activo se une covalentemente a una molécula endógena o algún anticuerpo con la finalidad de que conserve sus propiedades farmacéuticas pero sea reconocido por los sistemas de transporte biológicos dada su fracción endógena. Estos caballos troyanos moleculares pueden emplear anticuerpos dirigidos al receptor de insulina, a del LDLR, de folato, etcétera.

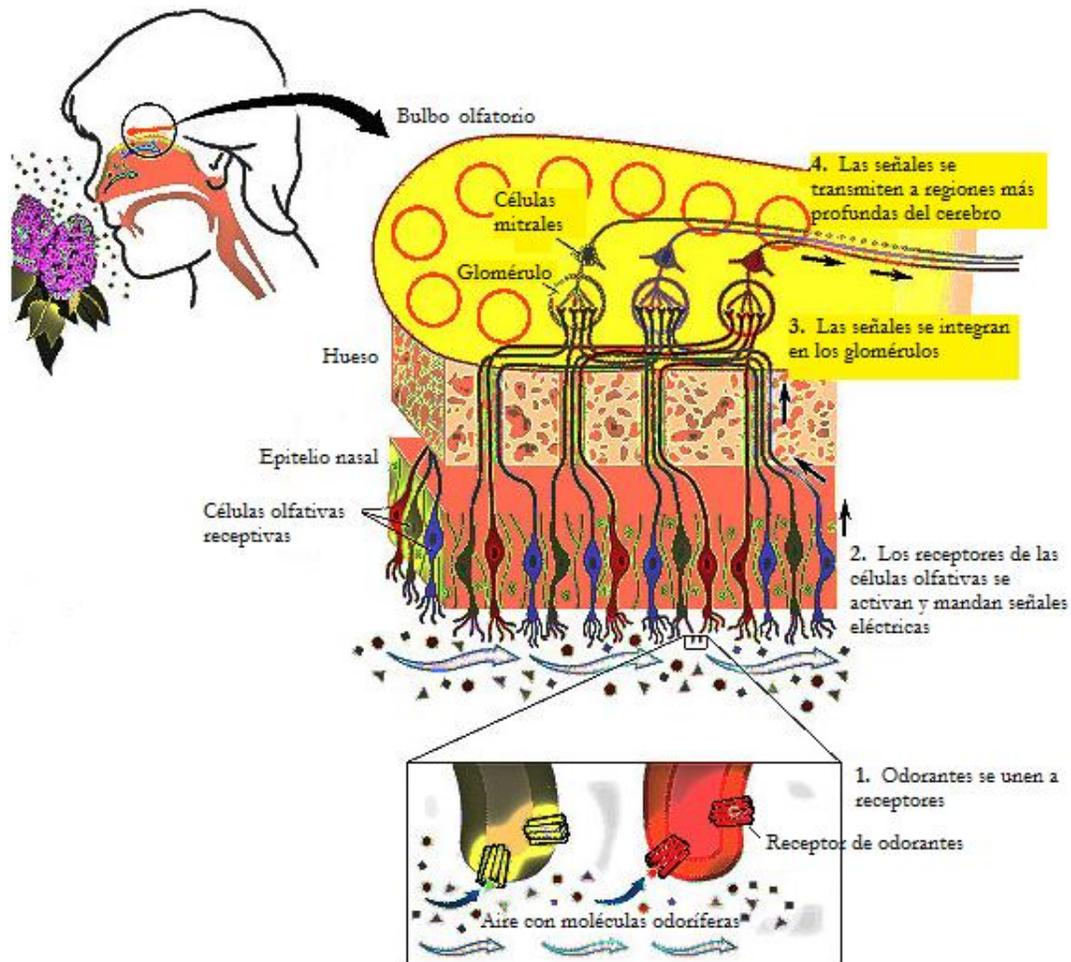
Los caballos troyanos moleculares deben presentar las siguientes características para que se puedan considerar vehículos de fármacos eficaces (Pardridge, 2010):

1. El sistema debe estar dirigido a un receptor en la BHE, que tenga la capacidad de efectuar transcitosis y no de endocitosis, ya que esto representaría su egreso inmediato mediado por la glicoproteína-P.
2. El ligando debe tener una alta afinidad por el receptor en las CECSC.
3. Esta afinidad debe de mantenerse después de unirse a la molécula de interés terapéutico.
4. El efecto del agente terapéutico debe de ser considerable después de la unión al ligando.
5. El complejo debe mostrar una permeación considerable (> 2% de la dosis)
6. Posterior a su administración *in vivo* se debe desencadenar una respuesta biológica en el organismo.

**Administración Intranasal.** Se ha considerado esta vía para evitar la discriminación por parte de la BHE y evadir el efecto de primer paso. Además de su administración no invasiva conlleva menos riesgos. Es importante resaltar la diferencia entre la vía inhalatoria y la vía intranasal, donde el sitio de absorción son los pulmones y los capilares nasales (respectivamente). Existen diferentes tipos de células que revisten la cavidad respiratoria, de los cuales destacaremos que solo dos tienen cierta permeabilidad como se observa en la **figura 31**;

la región respiratoria y la región olfatoria. En la región respiratoria se encuentran microvellosidades y es una región muy vascularizada. Mientras que la región olfatoria encontramos células olfatorias especializadas con cilios; esta zona tiene acceso directamente al líquido cefalorraquídeo.

**Figura 31.** Administración vía intranasal e integración de estímulos olfativos. Vía de absorción intranasal. Recuperado y modificado de: <http://image.slidesharecdn.com/sentidodelolfatofisiologiaii-130826090430-phpapp02/95/sentido-del-olfato-fisiologia-ii-3-638.jpg?cb=1377507907>



---

---

Como podemos observar, la vía intranasal evita el efecto del primer paso. En esta zona la permeación se realiza por dos vías. La paracelular (difusión pasiva de iones y moléculas hidrófilas a través de las uniones oclusivas) y la transcelular (difusión pasiva o transporte activo de compuestos lipofílicos como el propanolol, la progesterona o el fentanilo. Moléculas de hasta 1000 Da pueden migrar vía paracelular. Esta mucosa es más permeable que la mucosa bucal, rectal y vaginal. De hecho los compuestos lipofílicos de un tamaño adecuado tienen una biodisponibilidad cercana al 100%, mientras que los compuestos hidrofílicos presentan una biodisponibilidad cercana al 10% y los péptidos de 1%.

La administración intranasal presenta las siguientes ventajas:

1. Superficie relativamente grande (células epiteliales cubiertas con microvellosidades).
2. Alta permeabilidad (si PM menor que 1000 Da) debido a que posee una membrana endotelial porosa y la capa epitelial está altamente vascularizada (alto flujo sanguíneo por centímetro cúbico).
3. Posibilidad de evitar la barrera hematoencefálica.
4. Fácilmente accesible.
5. No hay efecto de primer paso hepático.
6. No existen variaciones de pH.
7. Actividad enzimática menor a la del tracto gastrointestinal.
8. No invasiva
9. Rápido inicio de acción.
10. Posibilidad de lograr una liberación controlada hasta por 8 horas.
11. Efecto local (asma, alergias, congestión) y sistémico.
12. Técnicas de administración simples, es decir, no requieren especialización (posibilidad) y económicas. (continua en la siguiente página)

---

---

### 13. Perfiles plasmáticos próximos a la vía intravenosa.

Al considerar todas las ventajas que presenta esta vía de administración es imperativa la implementación de esta vía lo más posible en la práctica clínica. Existen diversas investigaciones para generar vehículos para administración intranasal dirigidos al SNC. Haque *et al.* (2011) desarrollaron nanopartículas de quitosán cargadas con venlafaxina diseñadas para su administración intranasal. En el estudio demostraron la posibilidad de emplear vehículos de quitosán para esta vía, dado que este polímero ha demostrado poseer buenas cualidades bioadhesivas (requerido para que permanezcan en la zona de absorción el tiempo adecuado).

Actualmente se investiga y existen en el mercado líneas de tratamiento diseñadas para su administración intranasal, estas se presentan en la tabla 3.

**Tabla 3.** Algunos fármacos formulados para su administración intranasal. (Haque *et al.* 2011)

<b>Tipos de fármacos</b>	<b>Principio activo, medicamento y farmacéutica</b>
Antimigrañosos	Sumatriptan (Imigran ® GlaxoSmithKline), zolmitriptan (AstraZeneca), ergotamina (Novartis), butorphanol (BristolMyersSquibb)
Péptidos	Calcitonina (Novartis), desmopresina (Ferring), busarelina (Aventis), nafarelina (Searle)
Vacunas	Influenza
Hormonales	Estradiol (Servier), insulina
Analgésicos	Morfina, hidromorfina, ketamina, fentanilo

Otros	Apomorfina (disfunción eréctil), leuproide, interferón, midazolam
-------	---

Esta vía representa notorias ventajas respecto al ingreso de sustancias relativamente grandes (hasta 1000 Da) al SNC y también para generar con cierta celeridad su efecto terapéutico. Pero, para maximizar su efecto se requiere que el acarreador se adhiera el tiempo suficiente a la mucosa donde se absorbe y que supere las complicaciones mecánicas que representa la formación y flujo del muco. Empleando esta vía es factible sortear la BHE, por lo cual el desarrollo de un vehículo óptimo para transportar sustancias hidrófobas e hidrofílicas, y con el empleo de nanopartículas es imperativo e incluso la administración de material genético.

**Tecnologías Genéticas.** Varias enfermedades cerebrales intratables mediante los métodos terapéuticos convencionales representan oportunidades para la aplicación de tratamiento genico. Se han conseguido avances mediante el uso de péptidos endógenos, proteínas modificadas o anticuerpos monoclonales vinculados a los transportadores endógenos de la BHE, conocidos también como péptidos quiméricos (Loch-Neckel y Koepp, 2010). Como estas moléculas son solubles en agua y demasiado grandes para cruzar la BHE, se utilizan los denominados caballos de Troya (como se mencionó previamente).

**Nanopartículas.** El empleo de nanopartículas para sortear la BHE es considerado como un método incomparable que permite la entrega de fármacos (con cualquier tipo de características: liposoluble, elevado PM, etc.), péptidos e incluso genes de manera específica al tejido donde se requiere y pudiendo hacerlo durante periodos prolongados. Dichas ventajas nos invitan a enfocar nuestros esfuerzos para innovar el concepto de medicamento.

---

---

En el siguiente capítulo ampliaremos la definición de nanopartícula, explicaremos el tipo de nanopartículas que se emplean en el desarrollo de nanoacarreadores dirigidos al SNC y proporcionaremos ejemplos de las técnicas empleadas para conseguir la vectorización.

#### 4 SISTEMAS NANOPARTICULADOS DIRIGIDOS AL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

En los últimos veinte años hemos asistido al inicio de una revolución científica basada en la capacidad de medir, manipular y organizar la materia en la escala del nanómetro ( $10^{-9}$ m). La nanotecnología se define como el conjunto de conocimientos y técnicas dirigidas a estudiar, fabricar y caracterizar estructuras funcionales con dimensiones por debajo del micrómetro. El diámetro de un átomo de carbono es de 134 picómetros ( $1\text{pm} = 10^{-12}\text{m}$ ). La anchura del ADN es aproximadamente 2,5 nm y las moléculas proteínicas miden 1-20 nm; los procesos fisiológicos y patológicos a nivel celular ocurren a una escala similar.

Uno de los principales objetivos de un formulador farmacéutico es el diseño de nuevos sistemas o dispositivos de liberación que permitan una liberación controlada, de manera temporal y espacial.

La idea de especificidad terapéutica fue descrita por Paul Ehrlich en 1906, al describir su descubrimiento (salvarsán, medicamento contra sífilis) como “una bala mágica”, ya que de esa manera atribuía que se generaba el efecto farmacológico; las partículas viajaban a través del cuerpo hasta llegar a la célula infectada donde, por medio de un sistema de reconocimiento de “llave y cerradura” se dirigía solo a estas células.

A más de cien años este concepto no puede ser más palpable. En este momento existe una gran diversidad de estructuras y sistemas nanométricos diseñados bajo esta propuesta. En el presente

---

---

trabajo se recopilan las principales formas farmacéuticas elaboradas con la finalidad de ingresar al SNC y las estrategias empleadas en esta nueva etapa del desarrollo farmacéutico.

Cuando nos refiramos a sistemas nanoacarreadores de fármacos destinados a ingresar al SNC estaremos hablando de: a) liposomas, b) nanopartículas poliméricas, c) nanopartículas lipídicas sólidas, d) dendrímeros y e) micelas poliméricas.

El sistema nanoacarreador de fármacos ideal deberá cumplir con las siguientes características:

- Que posea estabilidad en sangre y sea de fácil administración.
- El tamaño de la partícula debe ser en el orden de los 100nm, para evitar la captación del SMF y también evitar su eliminación por filtración glomerular.
- Debe tener un tiempo adecuado de circulación, para esto debe ser esférico con cierta deformabilidad y características superficiales adecuadas.
- Estabilidad para esterilización (cuando se requiera administrar vía parenteral).
- Debe de transportar a la sustancia al sitio de acción deseado y liberarla a una velocidad adecuada menor que su velocidad de absorción, de esa manera se evita alcanzar niveles tóxicos.
- El acarreador debe ser no tóxico, biodegradable y biocompatible.
- Deben ser capaces de marcarse superficialmente para poder ser vectorizados.
- Capaz de almacenar moléculas, de diferente PM e hidrosolubilidad.
- El método de producción debe ser escalable y a un costo efectivo.

#### 4.1 DENDRÍMEROS

Los dendrímeros han recibido gran atención en los últimos años debido a su posible utilización en aplicaciones tan variadas como catálisis a nanoescala, sensores químicos, imitación de la

---

---

función de las enzimas, encapsulación de moléculas, reconocimiento molecular, agentes de diagnóstico y también como vehículos para el transporte de genes y fármacos.

Estas moléculas multifuncionalizadas presentan la ventaja de ser modificadas para presentar un grupo funcional deseado de forma multivalente, de forma que incrementen sinérgicamente su acción.

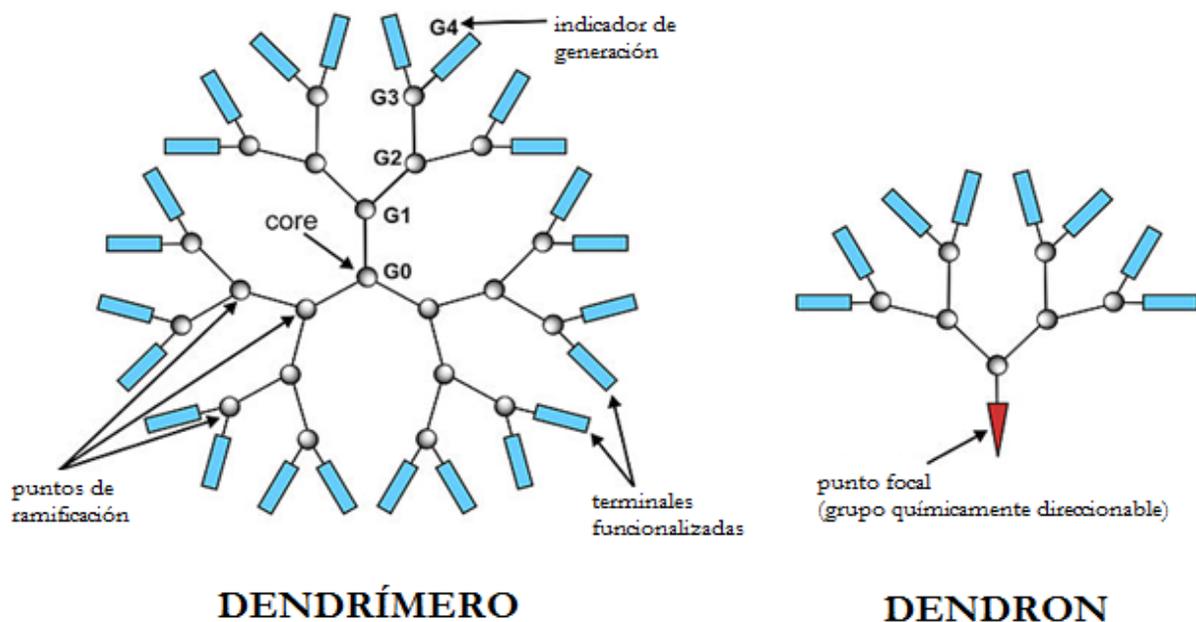
En química orgánica sintética, las estructuras dendríticas se consideran actualmente como la cuarta generación o clase de la arquitectura macromolecular que ha ido desarrollándose desde los primeros polímeros, en la década de los años treinta, hasta la actualidad.

La estructura dendrítica está caracterizada por “capas” entre cada punto focal llamadas “generaciones”. La definición exacta del término “generación” ha sido objeto de controversia, aceptándose generalmente el número de puntos focales que aparecen desde el núcleo central hasta la superficie. Un dendrímero de quinta generación presenta por tanto cinco puntos focales entre el núcleo y la superficie. El núcleo es denominado a veces “generación cero” (G0), ya que no presenta ningún punto focal. Actualmente se han desarrollado dendrímeros formados con poliamidoaminas (PAMAM, principalmente), polipropilenimina (PPI), porfirínicos y de carbosilano también.

**Figura 32.** Estructura básica de un dendrímero (izquierda). Unidad dendrímica (derecha).

Recuperado de: <https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/e/e8/Graphs.jpg>

/220px-Graphs.jpg



Para poder utilizar un dendrímero en biomedicina, éste debe cumplir varias condiciones de importancia crucial:

- No ser tóxicos.
- No inmunogénicos (excepto para vacunas).
- Atravesar barreras biológicas: barrera hematoencefálica, membranas celulares, intestino, etcétera.
- Ser estables y permanecer en circulación el tiempo necesario para tener el efecto clínico buscado.
- Ser capaz de dirigirse a dianas específicas.

A pesar de su atractiva propiedad como acarreador multifuncional, los dendrímeros amino-terminados suelen ser citotóxicos (Gonzalo y Muñoz). La citotoxicidad de los dendrímeros

---

---

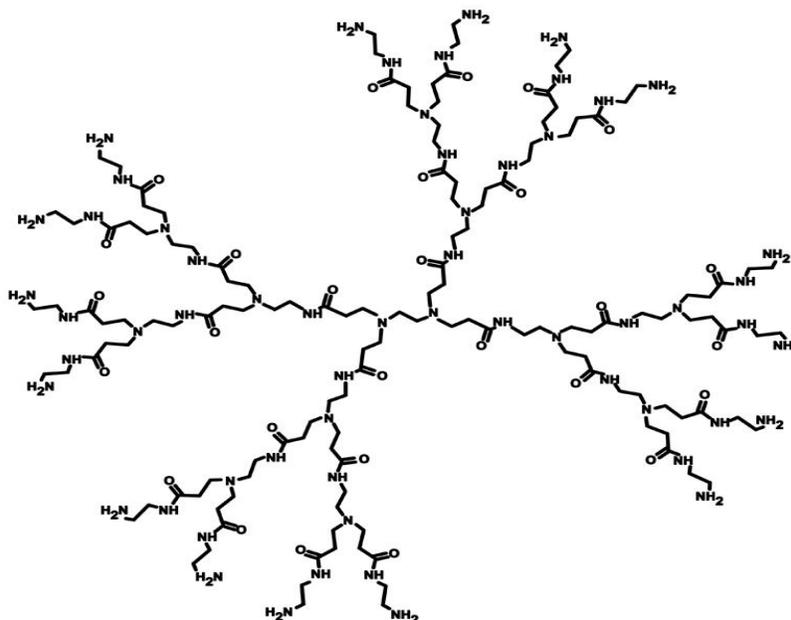
cati3nicos puede ser debida a las interacciones entre la superficie cati3nica del dendr3mero y la superficie cargada negativamente de las membranas celulares, permitiendo a dichos dendr3meros adherirse a la superficie celular y da1arla, causando la lisis celular.

Aunque tambi3n se ha observado que la carga positiva le confiere potencial para emplearse en terapias g3nicas. Lo crucial es encontrar el punto medio.

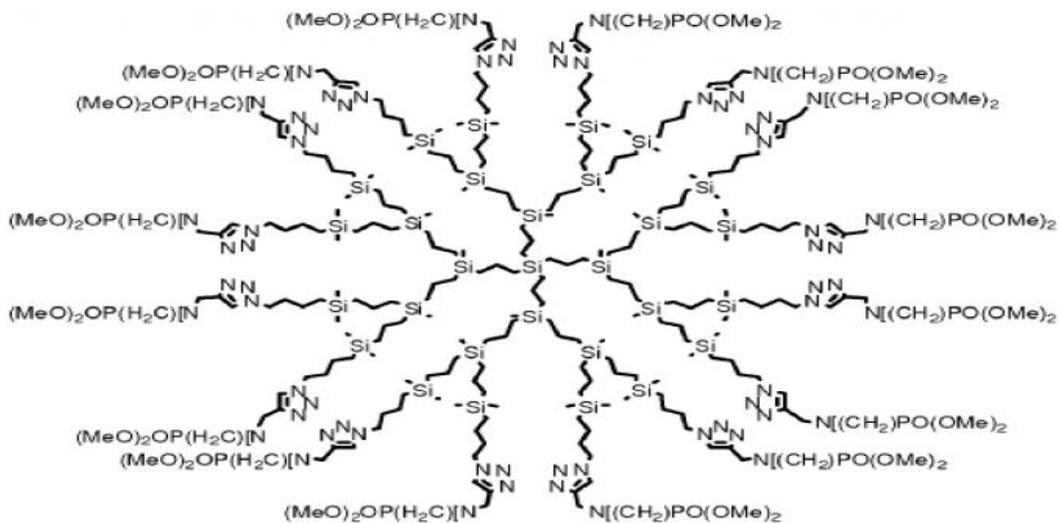
Estudios recientes han demostrado que los PAMAM con terminaciones amino, con una estructura de mayor tama1o (por ejemplo grupos alquilo) presentan mayor toxicidad que los PAMAM con los grupos amino libres. Sin embargo, los dendr3meros PAMAM con grupos carboxilato en su superficie (ani3nicos) presentan una menor toxicidad que los dendr3meros cati3nicos amino-terminales. La toxicidad de los dendr3meros no est1 determinada solamente por la naturaleza de los grupos de superficie, sino tambi3n por la naturaleza qu3mica del esqueleto dendrim3rico. Dendr3meros con esqueleto arom1tico poli3ter con grupos carboxilato ani3nicos en superficie han demostrado ser hemol3ticos en ratas tras 24 horas de incubaci3n. Pudiera ser que el interior arom1tico del dendr3mero causara hem3lisis debido a contactos hidrof3bicos con la membrana.

Se ha demostrado recientemente que los dendr3meros carbosilano con grupos ani3nicos en la superficie (sulfonato o carboxilato) presentan una menor toxicidad que los mismos carbosilano con grupos funcionales cati3nicos.

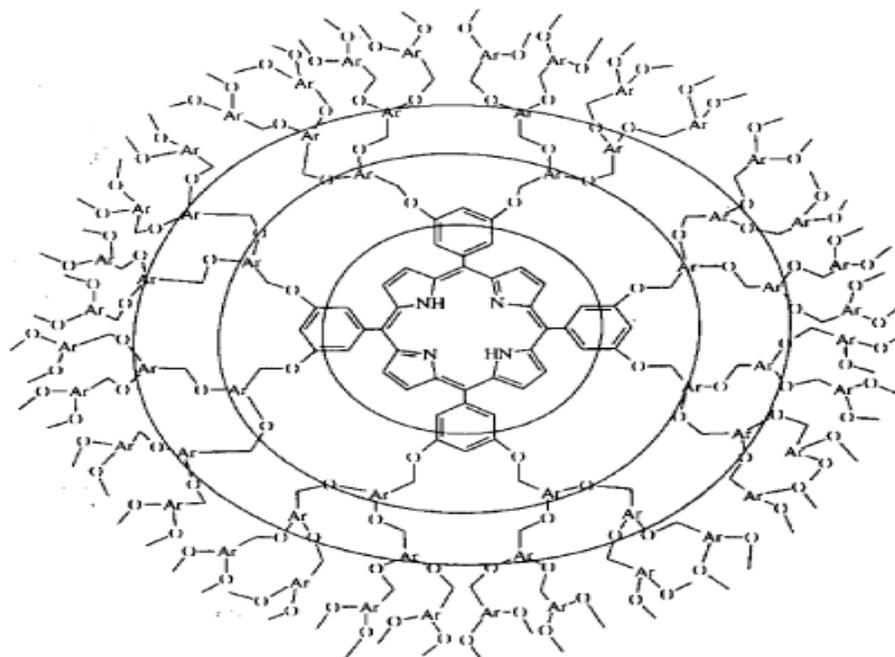
**Figura 33.** Estructura de un dendrímero de poliamidoamina (PAMAM). Recuperado: <http://patentados.com/img/2011/12-descripcion/dendrimeros-basados-pamam-derivatizado-grupos-alquil-sulfonilo.2.png>



**Figura34.** Estructura de un dendrímero de carbosilano. Recuperado de: <http://patentados.com/img/2012/02-descripcion/dendrimeros-carbosilanos-y-su-uso-como-antivirales.13.png>



**Figura 35.** Estructura de un dendrímero porfirínico. Recuperado de: <http://www.scielo.br/img/fbpe/qn/v21n4/3194f10.gif>

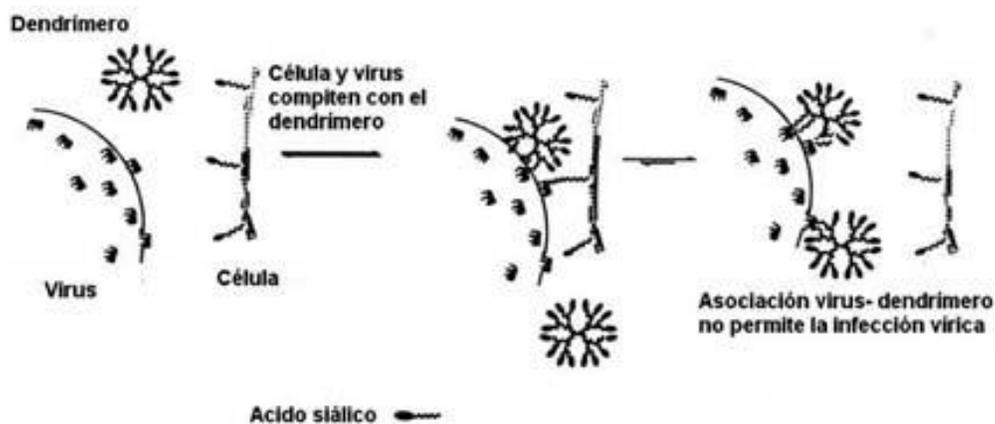


A pesar de estas características desfavorables, se ha observado que *in vivo* no existen efectos inmunogénicos considerables cuando se utilizan dendrímeros de hasta una quinta generación, independientemente de la carga de la superficie. Por lo tanto se ha investigado el uso de dendrímeros de cuarta y quinta generación principalmente, ya que permiten una máxima multifuncionalidad. (González y Muñoz).

Se le han dado varias aplicaciones a los dendrímeros en la práctica clínica, algunas como: a) vehículos para fármacos, b) vectores de transferencia génica, c) vehículo para intoforésis (aplicación de un gradiente electroquímico para favorecer la entrada de fármacos, péptidos y hasta ADN a través de la piel sin el empleo de agujas), d) para vectorizar fármacos (funcionalizando las ramificaciones se puede obtener una liberación espacial específica), e) como promotor de la permeabilidad para administración transdérmica, f) antivirales (el diseño

terminal con residuos aniónicos de sulfonato  $[R-SO_3^-]$ , ácido siálico y naftil-sulfonato como lo muestra la figura 35 es reconocido por algunos virus y su unión impide la infección viral al virus, lo que resulta en una protección contra la infección), g) antibacterianos (dendrimeros con cargas positivas en la superficie se unen y dañan la membrana bacteriana, generando la lisis de distintas bacterias tanto gram positivo, como negativo), h) desnaturalizar proteínas (disminuyen interacciones hidrófobas, generando un cambio conformacional y la pérdida de la actividad biológica) e i) como plataformas con diversos antígenos que sirven para una inmunización múltiple. (Gonzalez y Muñoz).

**Figura 36.** Mecanismo de acción antiviral propuesto para los dendrimeros. Recuperado de: <https://www.analesranf.com/index.php/mono/article/viewFile/992/1026>



Li *et al.* (2012) reportaron la fabricación de dendrimeros de poliamido amina (PAMAM) de cuarta generación conjugados con polietilenglicol, y funcionalizados con lactoferrina (para vectorizar a células cancerosas mediante su receptor) y Tamoxifeno (fármaco que ha demostrado inhibir la actividad de los sistemas de transporte de eflujo). En este estudio se aprovechó la sobreexpresión de los receptores de Lactoferrina tanto en las CECSC como en las células tumorales. Tamoxifeno inactiva el transporte mediado por los sistemas de eflujo

---

---

(glicopretina-P y la proteína asociada a la resistencia a cáncer de pecho; BCRP) para incrementar de manera sinérgica la concentración en el parénquima cerebral.

Este equipo de investigación descubrió la relación entre el tipo de enlace mediante el cuál se unen los ligandos y cómo influencia en el efecto. Por ejemplo, algunos enlaces sensibles a estímulos, como el grupo *cis*-aconitato es sensible a pH ácidos, así como la acil hidrazona, grupos ester y enlaces disulfuro. Por ejemplo al formular un dendrímero que contenía N-Acetil cisteína, en una ramificación, unida covalentemente mediante un enlace disulfuro demostró tener una mayor actividad antioxidante que el fármaco libre, hasta 16 veces más. (Li *et al.*, 2012). En este trabajo la doxorubicina en la periferia se encuentra unida mediante un enlace sensible a pH ácido, como es el enlace acil hidrazona. Con la finalidad de controlar la liberación del activo. Mientras que los sustituyentes de transferrina y polietilenglicol (PEG) incrementan el tiempo de circulación y disminuyen la captación por el SMF y auxilian en la migración a través de la barrera hematoencefálica mediante transcitosis mediada por el receptor.

Estos dendrímeros de cuarta generación implicados en el tratamiento de gliomas demostraron ser sistemas de transporte eficientes y representan una herramienta muy útil para el tratamiento de tumores localizados en el cerebro.

Otra aplicación sugerida para los dendrímeros constituye su aplicación para la terapia génica. Huang *et al.* (2008) detallan la preparación de un vector no viral para su uso en transferencia génica. Como nanoacarreador se empleó un sistema de poliamidoamina (PAMAM) en forma arborescente (dendrímero) empleando PEG en las terminales para poder funcionalizar el polímero (unir ligandos endógenos, anticuerpos, antígenos, etcétera). Se comprueba la formación del complejo poliamidoamina-polietilenglicol-lactoferrina (PAMAM-PEG-Lf) mediante resonancia magnética nuclear (RMN). Se observó que el PEG inhibía las

---

---

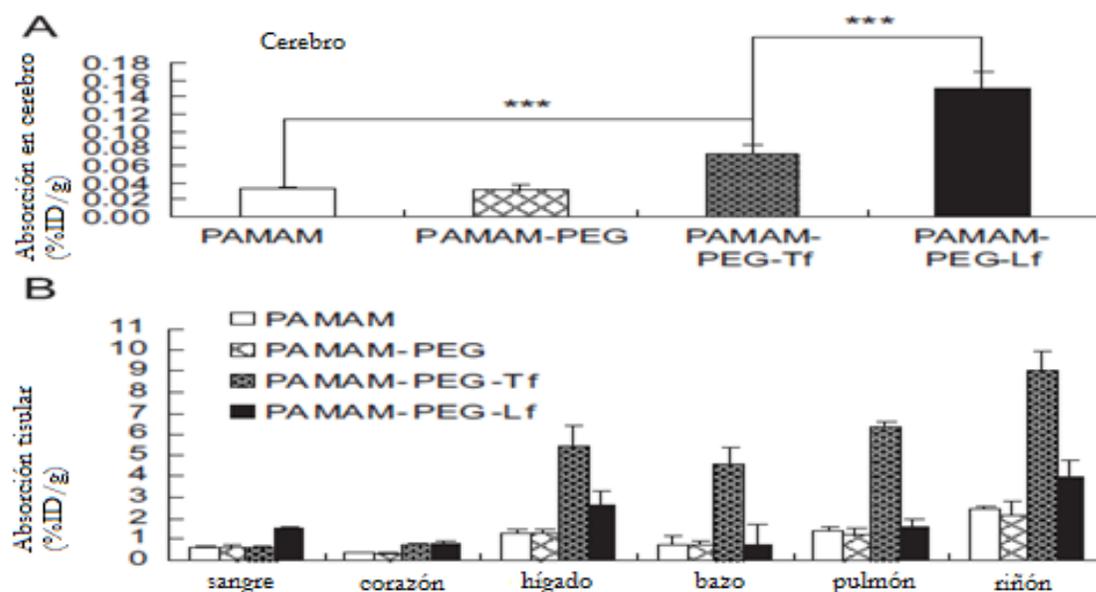
interacciones iónicas entre el núcleo cargado positivamente y la carga de la membrana, disminuyendo los efectos tóxicos generados.

El ligando lactoferrina representa la sección de la molécula encargada de la vectorización.

El comportamiento de los vectores en el organismo se monitorea empleando un marcador fluorescente, BODIPY (complejo de dipirrometeno con un átomo de boro disustituido, generalmente con átomos de Fluor). Con ayuda de una técnica denominada criofractura es posible observar en qué estructuras del cerebro y en qué grado se expresaron los genes exógenos. Los resultados demuestran la expresión de los genes en neuronas de diversas estructuras, como de: hipocampo, núcleo caudado y putamen.

Existen dos propuestas para explicar la razón por la cual al emplear como ligando de dirección a la Lactoferrina se tengan resultados que duplican su actividad, cuando son proteínas de la misma familia, con la misma actividad. Esto se puede deber: a) La unión de lactoferrina y su receptor no es afectada por la lactoferrina endógena; ya que a condiciones fisiológicas existen bajas concentraciones de Lactoferrina y los receptores tienen una baja ocupación como consecuencia, b) La Lactoferrina posee carga positiva, generándose una atracción electrostática entre la Lf y la membrana plasmática, c) El transporte de Lf en las CECS se realiza de manera unidireccional (no es sustrato de los sistemas de eflujo dependientes de ATP) esto genera una mayor acumulación, en comparación con su contraparte conjugada con Transferrina.

**Figura 37.** Gráficas de porcentaje de: A) dosis captado por el cerebro a partir de distintos dendrímeros y B) Distribución en diferentes tejidos Evidenciando una mayor captación por órganos referentes al metabolismo y excreción. Recuperado y modificado de: Huang et al. 2008.



Los resultados de este estudio demuestran la potencial aplicación de la Lactoferrina como un ligando de dirección efectivo para el diseño de nanoacarreadores que pretendan dirigir la terapia al SNC. Aunque la fracción de dosis que llega a cerebro es mayor que los otros sistemas, aún es una fracción muy pequeña (~0.16%).

En la siguiente tabla se muestran los sistemas arborescentes, su aplicación y fase de desarrollo, así como la organización implicada en su desarrollo.

**Tabla 4.** Dendrímeros desarrollados en la actualidad y su fase de investigación. (Huang et al., 2008)

Fase de investigación	Producto	Aplicación	Mecanismo de Acción	Organización
Clínica I	Dendrímeros	Prevención VIH y herpes genital	Antiviral tópico vaginal	Starpharma Pty, Ltd
Preclínica	Complejo Dendrímero-Gadolinio	Diagnóstico por RMN de cáncer hepatobiliar		Universidad de Kyoto y National Cancer Institute
Preclínica	Dendrímeros	Fármacos oncolíticos		College Universitain de Saint-Boniface y Ohio State University
Preclínica		Terapia génica	Terapia cáncer de prostat	Kyoto Prefectural University of Medicine
Diagnóstico biológico	Dendrímeros	Diabetes tipo I	Agentes neurotróficos	
Preclínica	Dendrímeros	Tratamiento de ictus y desórdenes cognitivos	Activadores FGFR1	Enkam
Preclínica	Dendrímeros radiosensibilizantes	Fármacos oncolíticos		Ohio State University
Preclínica	Complejo Dendrímero-Gadolinio	Agentes para RMN		Mitsubishi Tanabe Pharma
Diagnóstico biológico	Dendrímeros	Tratamiento de trastornos renales e hiperparatiroidismo		Genzyme

#### 4.2 LIPOSOMAS

Los liposomas han sido empleados como modelos de membrana y vehículos de una gran diversidad de moléculas, con propósitos bioquímicos, nanobiotecnológicos y biomédicos. Si consideramos la semejanza estructural que tienen los liposomas con las células de estas vesículas, es lógico que resulten tan atractivas para el diseño de vehículos de proteínas, ADN, fármacos, etcétera.

---

Los liposomas son vesículas preparadas artificialmente, de talla nanométrica y forma aproximadamente esférica con una fase acuosa interna rodeada por una o más bicapas lipídicas. Alec D. Bangham descubrió, en 1961, que los fosfolípidos en agua forman inmediatamente esferas cuyas paredes se encuentran organizadas en bicapas debido a fuerzas electroestáticas de asociación y repulsión entre las zonas hidrófilas y las lipófilas.

El uso de los liposomas como nanoacarreadores de fármacos se ha dirigido a reducir los efectos tóxicos colaterales de las drogas en órganos sensibles, tales como corazón y riñones. Y también para lograr una vectorización a tejidos específicos tales como los tumorales. Aunque para esto se requiera la funcionalización del liposoma lo cuál se abordará más adelante. Por otra parte, la inclusión de lípidos catiónicos (como 1,2-dioleil-3-trimetilamoniopropano) en la composición liposomal ha potenciado su capacidad para mediar la transducción en la terapia génica. Su amplio estudio en procesos inmunitarios se debe a que se puede liberar el contenido de la vesícula en células específicas del sistema inmune.

Los liposomas están constituidos por moléculas anfipáticas derivadas o basadas en la estructura de los lípidos de las membranas biológicas. Estos lípidos se forman, generalmente, a partir del enlace tipo éster de dos ácidos grasos con una molécula de glicerol (glicerolípidos), o también pueden estar constituidos por la unidad hidrófoba ceramida (esfingolípidos). Esta región hidrófoba está unida a una cabeza polar hidrofílica que puede contener grupo fosfato (fosfolípidos) o algunas unidades azúcares (glicolípidos). Las cabezas polares de los lípidos biológicamente relevantes pueden ser *zwitteriónicas* (que contengan tanto iones positivos como negativos) como: fosfatidil colina (PC), fosfatidil etanolamina (PE), esfingomieline (SM); o con carga negativa, como: ácido fosfátidico (PA), fosfatidil glicerol (PG), fosfatidil serina (PS), fosfatidil inositol (PI), cardiolipina (CL) y glicolípidos cargados negativamente o no. Las cadenas hidrocarbonadas saturadas con frecuencia varían en longitud entre 10 y 18 carbonos;

---

las de longitud mayor de 18 carbonos son usualmente insaturadas con uno, dos o tres dobles enlaces en configuración *cis*. Los lípidos cargados positivamente son moléculas sintéticas, las cuáles son diseñadas para propiciar la condensación con el ADN e interactuar con las membranas biológicas con carga neta negativa.

Los lípidos anfipáticos (que contienen una región hidrófoba y una hidrófila) son muy poco solubles en agua como monómeros, pero con una concentración micelar crítica baja (CMC), oscilando entre  $10^{-6}$ – $10^{-7}$  M (Gregoriadis, 2007), magnitud que depende de la longitud de las cadenas hidrocarbonadas presentes en sus estructuras. Las moléculas anfipáticas con una sola cadena hidrocarbonada (cadenas de ácidos grasos insaturadas, detergentes, etc.) espontáneamente forman agregados en estructuras micelares. Sin embargo, la mayoría de los lípidos derivados de las membranas biológicas tienden a formar bicapas flexibles en forma de vesícula en fase acuosa.

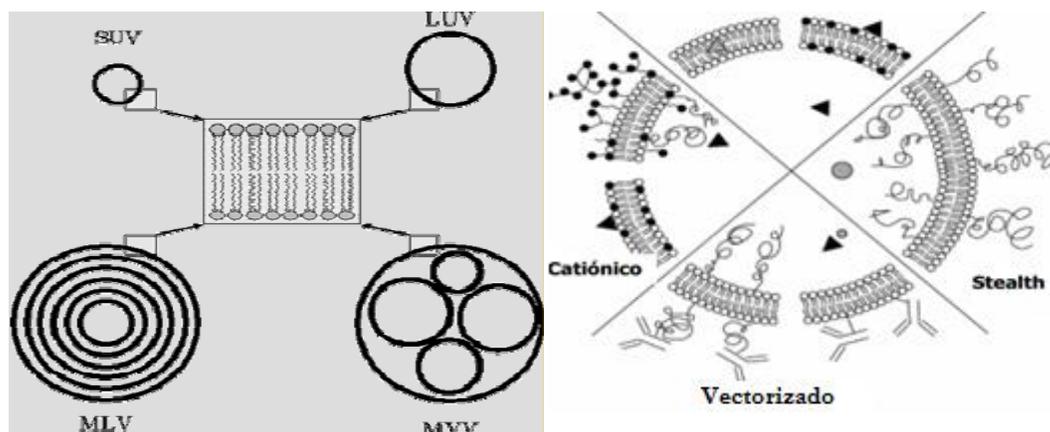
Los liposomas pueden clasificarse en base a su tamaño, el número de vesículas, tipo de vesículas y por las moléculas que forman las vesículas. Atendiendo a las características estructurales, en particular al número de bicapas y al tamaño, los liposomas se pueden clasificar en vesículas multilamelares (MLV, 0.1–10  $\mu\text{m}$ ) o unilamelares, estas últimas pueden ser de diámetro pequeño (SUV, <100 nm), de diámetro grande (LUV, 100–500 nm) o multivesicular). Ciertas mezclas lipídicas o lípidos aislados tienden a formar agregados que estructuralmente difieren de la bicapa (morfología de no-bicapa), ejemplo de ellos son las fases hexagonales o cúbicas.

En base a su composición se pueden clasificar en liposomas convencionales (fosfolípidos), tipo stealth (cubiertos con PEG), niosomas (fosfolípidos sintéticos), catiónicos (como se mencionó se

emplean en terapias génicas) y los target o vectorizados (que contienen en su superficie marcadores que permiten que el liposoma “llegue” a una diana en el organismo).

**Figura 38.** Estructura y clasificación de liposomas de acuerdo a su tamaño y composición.

Recuperado de: [https://ddd.uab.cat/pub/trerecpro/2011/hdl\\_2072\\_169540/PFC\\_FcoJavierMunozGarcia.pdf](https://ddd.uab.cat/pub/trerecpro/2011/hdl_2072_169540/PFC_FcoJavierMunozGarcia.pdf)



Todo lo relacionado con su producción y evaluación lo podemos encontrar en la excelente revisión realizada por Gregoriadis (2007).

Existen diversos trabajos que involucran el desarrollo de liposomas con la finalidad de establecer una terapia eficaz dirigida al SNC. Pero como vamos a entender la mayoría de los trabajos realizados son experimentos consecutivos para arreglar o continuar con las mejoras propuestas previamente. Bajo este esquema mencionaremos que la principal desventaja que los liposomas convencionales es que presentan un tiempo de circulación muy corto; debido a dos causas principalmente: a) el intercambio de ácidos grasos entre las lipoproteínas (principalmente HDL) y los liposomas conlleva a una inestabilidad física y una pronta liberación del contenido vesicular, y b) son rápidamente opsonizados y fagocitados por células del sistema mononuclear fagocitario (SMF). Estas complicaciones son la razón principal de la

---

---

aparición de los liposomas tipo stealth (con cubiertas de Polietilenglicol); este tipo de liposomas tienen un tiempo de circulación de 8 a 12 horas; y gracias a la capacidad de marcar la superficie de los liposomas, se amplió el uso de los liposomas hacia una posible vectorización de fármacos. Otra complicación que presentan los liposomas es que las moléculas de fosfolípidos no se encuentran confinadas a la estructura, si no se encuentran en equilibrio con el medio, así cualquier cambio drástico en la membrana vesicular conlleva a una inestabilidad física y una ruptura de la vesícula. Para solucionar esta complicación se generaron liposomas estéricamente estabilizados y esto también se logra mediante la unión o adsorción de PEG en la superficie, más adelante se explicará a detalle como se vectoriza una NP.

A continuación detallaremos los avances científicos motivados con la idea de emplear a los liposomas como nanoacarreadores de sustancias terapéuticas (fármacos, péptidos y genes) dirigidos al SNC.

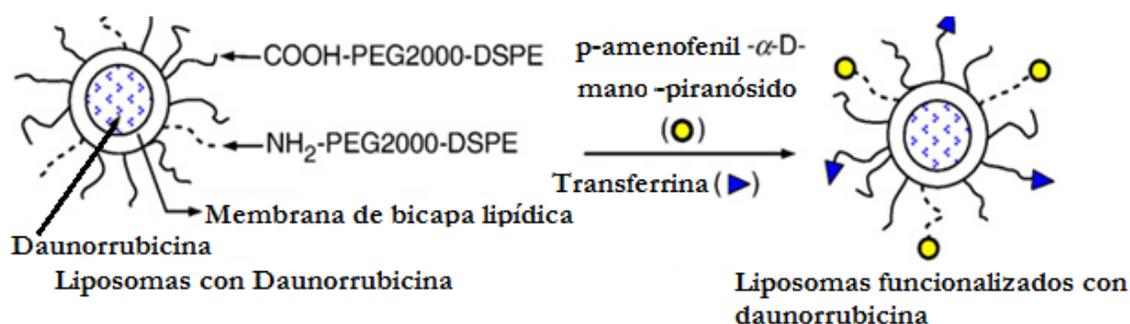
Antes de emplear técnicas de vectorización activas (marcar la superficie del acarreador) existía lo que se conoce como vectorización pasiva; esto se produce de la siguiente manera. Las células tumorales poseen una alta vascularización, así como propiedades angiogénicas. Los nuevos vasos que rodean al tumor poseen fenestraciones de un tamaño de poro de 100 a 1200nm y carecen de sistema linfático. Por lo tanto, fármacos que puedan migrar a través de los capilares tumorales mostrarán un efecto de permeación y retención habilitada (EPR) (Fujita *et al.*, 2007; denotan que se requiere un peso de 45 kDa para evadir filtración glomerular).

En cuanto a las técnicas activas para vectorizar podemos describir los liposomas formulados por Ying *et al.* (2010); este equipo diseñó liposomas funcionalizados con dos elementos de dirección para su empleo en formulaciones que pretendan dirigirse al SNC.

En concreto este sistema cargado con daunorrubicina fue diseñado para tratar células cancerosas en el cerebro; particularmente, células C6 de glioma humano injertadas en ratas para comprobar la eficacia de los sistemas *in vivo*.

Estos liposomas generados por Ying *et al.* (2010) poseen dos marcadores en la membrana, que se mencionó, tienen la función de dirigir el sistema a través de la barrera hematoencefálica y a células cancerosas empujando de manera conjunta RMT vía el receptor de transferrina y CMT mediante el transportador de análogos de glucosa GLUT1. Estos liposomas estaban conjugados con p-aminofenil-D- $\alpha$ -manopiranosido (MAN) y con transferrina (Tf).

**Figura 39.** Funcionalización de un liposoma con PEG y manosa. (Ying *et al.* 2010)



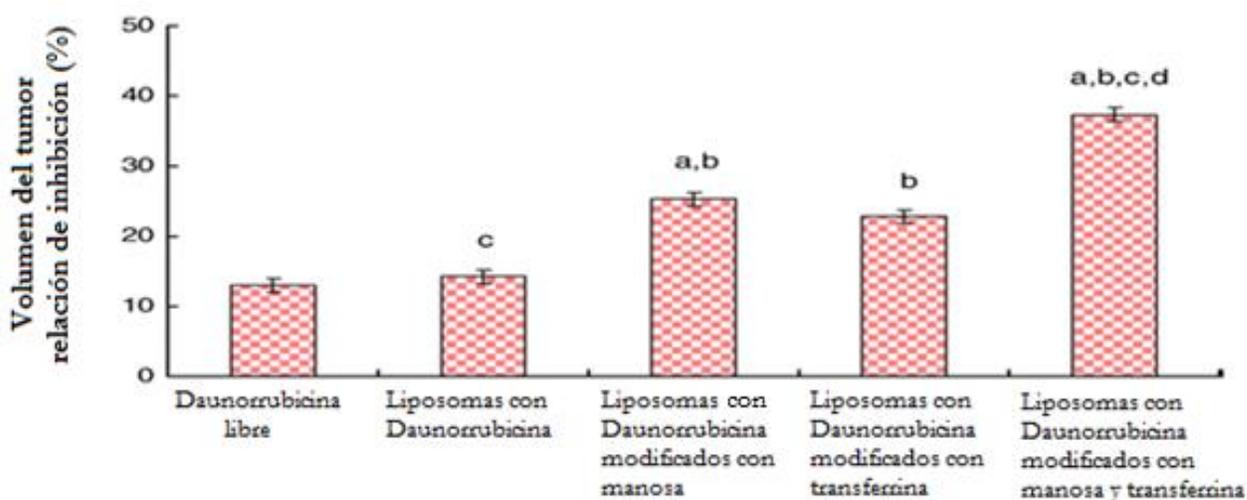
Como ya se había mencionado existen receptores para Transferrina en la membrana luminal de los capilares sanguíneos cerebrales, así como también se encuentra sobreexpresado en las células del tumor primario. En cuanto al segundo ligando, observamos que se trata de un derivado de manosa. Como podemos observar en la figura que representa la localización de los transportadores de glucosa en el SNC (figura26), la isoforma del transportador que se expresa en la membrana luminal de las CECSC y de las células endimares en el plexo coroideo. Y como este transportador reconoce análogos estructurales de la glucosa, es capaz de reconocer y transportar a la 2-desoxiglucosa, la galactosa, manosa entre otros análogos de la glucosa.

Debido a que este transportador reconoce eficazmente varias moléculas hidrocarbonadas, se considera su potencial explotación como mecanismo para internalizar sustancias al SNC.

Este modelo fue evaluado en modelos de BHE *in vitro*, con cultivos del glioma C6 *in vitro* y en modelos animales de rata con injerto de glioma C6 humano *in vivo*.

Los liposomas funcionalizados con Tf y con manosa mejoraron en un 24.9% la permeación a través del modelo de BHE, en contraste con el lote de daunorrubicina libre. En cuanto a su efecto sobre las células tumorales; el grupo de ratas tratadas con los liposomas modificados tuvo un promedio de vida de 22 días, mientras que el lote tratado con daunorrubicina libre tuvo un promedio de supervivencia de 17 días. 5 días representa más del 25% de tiempo; esto representa un gran avance para el tratamiento no solo de tumores cerebrales.

**Figura 40.** Gráfica que denota el efecto farmacológico en porcentaje de inhibición de crecimiento tumoral entre liposomas funcionalizados y el fármaco libre. Lográndose un mayor efecto farmacológico en el sistema liposomal que contiene los dos marcadores. (Ying et al. 2010)



---

---

Otros investigadores (Thole *et al*, 2002) plantean el uso de proteínas ligadas a la superficie como albúmina y albúmina cationizada. Los liposomas cargados con carboxy-fluoresceína y con dipalmitoilfosfatidiletanolamina marcada con rodamina- 123, para poder dar un seguimiento a las moléculas. Su eficacia para atravesar la BHE se evaluó en un modelo monocapa de células endoteliales de capilares sanguíneos porcinos.

Los resultados muestran que en los liposomas ligados a la albúmina no se generaban interacciones entre estos y las células endoteliales porcinas; mientras que en los liposomas con albúmina cationizada se observaba una acumulación intracelular elevada dependiente del tiempo. Agregando otras sustancias reconocidas por su mecanismo de endocitosis (cómo fenilarsenóxido o nocodazole que son sustratos de la vía caveolar o dansilcadaverina por vía clatrina), se puede deducir que el mecanismo de endocitosis es vía caveolar.

La limitación práctica de esta técnica consiste en la entrada de los liposomas solo a las CECSC, mientras que es necesario el ingreso al LCR, para el tratamiento de la mayoría de las enfermedades de interés. En 2013 se generaron liposomas conjugados con lactoferrina; obteniendo buenos resultados. En el estudio se empleó la línea celular del endotelio cerebral de ratón bEnd.3, para evaluar la permeación a través de la BHE. Los liposomas conjugados con Lactoferrina demostraron una captación del triple *in vitro* y doble *in vivo* 2 al comparar con liposomas con cubierta de PEG (tipo stealth). Aparte en el experimento demostraron el potencial del vehículo para encapsular al agente marcado con un isótopo radiactivo <sup>99</sup>Tc para emplearse en tomografía por emisión de un fotón único (SPECT).

Adicionalmente a las técnicas pasivas (empleo de glicolípidos y polietilenglicol) y activas (empleo de anticuerpos, vitaminas, factores de crecimiento, lipoproteína y otras glicoproteínas) de vectorización existen mecanismos de liberación de tipo gatillo, que mejoran la captación de

---

---

los agentes por las células afectadas. Estos mecanismos comprenden el empleo de sustancias sensibles a determinadas condiciones, que conduce a una inestabilidad del liposoma y conlleva a la liberación del activo.

Se han formulado liposomas termo-sensibles (incluyen dipalmitoilfosfatidilcolina y dipalmitoil fosfatidil glicerol cuya temperatura de transición de fases se encuentra unos grados centígrados por encima de la temperatura corporal), liposomas acoplados a proteínas virales fusogénicas (se denominan de esta manera dada su función en el acceso viral a la célula; Diversas proteínas tienen esta función, pero se ha reconocido un dominio hidrofóbico implicado, que se intercala en la bicapa lipídica. Se han estudiado las proteínas fusogénicas para la práctica clínica de virus de familias como: *Orthomyxoviridae*, *Togaviridae*, *Rhabdoviridae*, *Paramyxoviridae*, *Retroviridae* y *Coronaviridae*. También se han logrado formular liposomas sensibles al pH, estas formulaciones contienen tensoactivos ácidos que se protonan al disminuir un poco el pH corporal (como sucede en el citosol de células cancerosas), lo que resulta en la liberación del principio. Asimismo se han formulado liposomas sensibles a la luz y que se desestabilizan al unirse a un blanco.

Un ejemplo práctico lo proveen, Aoki *et al.* en 2004, formulan liposomas termosensibles que se pretenden emplear en el tratamiento de gliomas, utilizando un modelo en rata. Estos liposomas están diseñados para liberar su contenido por encima de los 40°C. El estudio demostró la capacidad de estos sistemas de liberar el contenido selectivamente en las zonas con hipertermia.

**Liposomas Catiónicos.** Los liposomas que contienen lípidos cargados positivamente se han desarrollado primeramente para emplearse como vehículos no virales para terapia génica. Los lípidos más empleados son el 1,2-dioleil-3-trimetilamoniopropano en combinación con el

---

---

dioleilfosfatidiletanolamina (DOPE). El colesterol ayuda a incrementar la transferencia génica y también reduce la desestabilización del liposomas en circulación sanguínea.

La interacción entre los lípidos catiónicos y los ácidos nucleicos conlleva la formación de estructuras denominadas lipoplexos. Los lipoplexos son elaborados típicamente mezclando soluciones de liposomas catiónicos y de ADN. Los liposomas con carga positiva y los fosfatos del ADN interactúan. Los lipoplexos tienen dimensiones entre 200nm hasta 2000nm.

A diferencia de los liposomas stealth, los liposomas catiónicos ingresan al SNC por endocitosis mediada por adsorción (AME). Si el pH disminuye a 5 o 6, DOPE se funde y se desestabiliza la membrana, liberando el contenido al citosol.

#### 4.3 MICELAS POLIMÉRICAS

Al igual que los liposomas, las micelas poliméricas son estructuras de autoasociación, generadas espontáneamente en medio acuoso. El proceso de autoensamble tiene un valor de CMC entre  $10^{-6}$  y  $10^{-7}$  M. Esta característica es importante ya que asegura la estabilidad de la micela aún después de ser administrada y se diluya drásticamente. La forma de la micela depende del copolímero hidrófobo. Estos se pueden clasificar dependiendo su naturaleza química en:

- Poliesteres (poli-(ácido láctico) y poli-( $\epsilon$ -caprolactona)).
- Poli (L-aminoácidos), como el poli-(ácido aspártico) y el poli-(ácido glutámico)

La mayoría de los polímeros son biodegradables y biocompatibles, aunque es necesario estar seguro de su inocuidad. Ya que se ha descrito que algunos polímeros de PACA se degradan mediante esterases presentes en el cerebro y esto produce metabolitos tóxicos. Los bloques hidrofílicos que son empleados con mayor frecuencia son poliéteres como el poli (óxido de

---

---

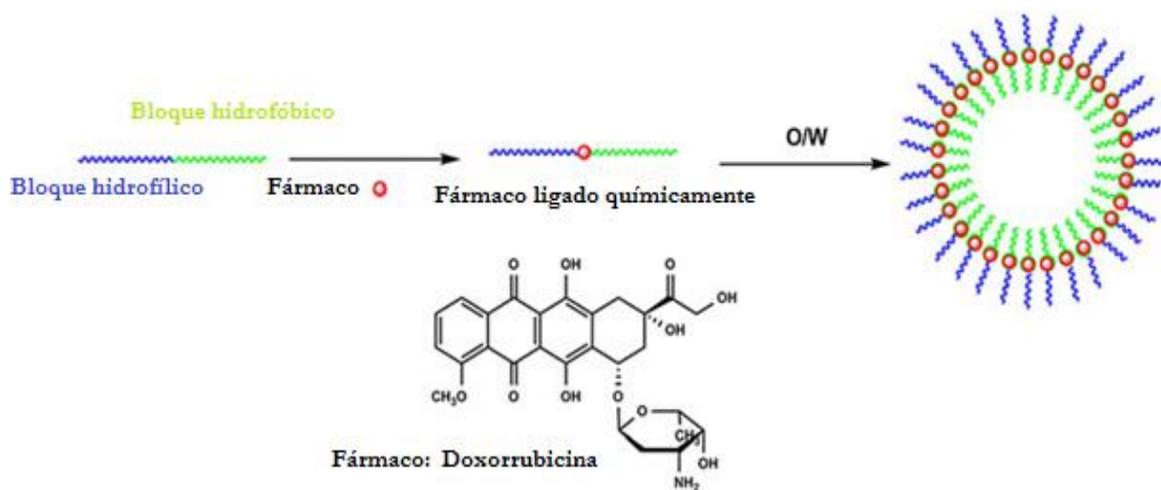
propileno) y PEG. Otros copolímeros hidrofílicos empleados son la poli (acrilil morfolina) y la polivinilpirrolidona (PVP). Los acarreadores poliméricos deben tener un PM mayor a 45-50 kDa para prevenir que sean eliminados vía filtración glomerular (Béduneau *et al.*, 2007). Se ha observado que micelas poliméricas fabricadas con copolímeros de PEG y poli (ácido láctico) tienen tiempos de vida media de circulación sanguínea de 18 horas. Hecho resaltable para el presente trabajo.

Su dimensión nanométrica (10- 100nm), la capacidad de permanecer un tiempo prolongado en circulación (debido al bloque hidrofílico que se presenta en la superficie de la nanopartícula), su capacidad de encapsulación de fármacos hidrofóbicos (gracias al núcleo de polímero hidrófobo) y finalmente la posibilidad de manipular químicamente tanto el núcleo, cómo la superficie del nanoacarreador, han convertido a las micelas poliméricas en uno de los tipos de NP más investigados para la vectorización de principios dirigidos.

Hoy en día se ha modificado la estructura de los nanoacarreadores en función de las necesidades; reportándose tres generaciones de micelas poliméricas. La primera generación consiste en el uso de polímeros no inmunogénicos, la segunda generación se reconoce como el empleo de marcadores en la superficie que permitan direccionar el nanoacarreador. Y la tercera generación de micelas poliméricas está comprendida por los nanoacarreadores multifuncionalizados. Estos marcadores empleados han demostrado gran especificidad hacia los tejidos enfermos.

El núcleo hidrofóbico está diseñado para brindar estabilidad a la micela y proveer un vehículo para incluir alguna sustancia hidrofóbica en el interior. La estructura superficial está diseñada para conseguir en efecto de permeabilidad y retención habilitada.

**Figura 41.** Observamos la estructura de micelas polimérica. Conformadas por dos bloques de polímeros; uno hidrofílico y el otro hidrófobo. La estructura se autoensambla en medio acuoso por fuerzas electrostáticas para lograr una forma de mayor estabilidad. En la figura observamos que los polímeros se encuentran unidos al fármaco. (Fujita, 2007)



Las micelas poliméricas constan de dos bloques unidos covalentemente. Un bloque formado por un polímero hidrofílico y el otro bloque formado por un polímero hidrofóbico. El PEG es el polímero hidrofílico más estudiado y con más aplicaciones biomédicas; dadas sus características no inmunogénicas y no tóxicas. Interesantemente el PEG no es biodegradable, pero puede ser excretado sin complicaciones en metabolitos no tóxicos. Este polímero está aprobado por la FDA para su empleo en forma farmacéutica y dermatológica.

Por el otro lado el copolímero hidrófobo más empleado en la práctica es el ácido poliláctico (PLA), una de las razones es que es biodegradable, y esta propiedad se transfiere al copolímero.

En las últimas décadas se ha prestado especial atención a los polímeros que responden a estímulos externos, tales como la temperatura, fuerza iónica del medio, pH y la presencia de un campo magnético con la intención de vectorización de las NP.

---

---

Una característica muy importante de estos sistemas es la flexibilidad química para emplear diferentes bloques. Lo que permite la manipulación de: a) la estructura, dependiendo las propiedades fisicoquímicas de la sustancia que se pretenda incorporar, b) la velocidad de liberación, c) la sensibilidad a estímulos externo y d) su especificidad hacia marcadores celulares.

#### 4.4 NANOESTRUCTURAS DE CARBÓN

Existen diversos estudios en los cuales se emplean novedosas nanoestructuras de carbón con la finalidad de acceder al sistema nervioso central. La capacidad de poder manipular su tamaño, su estructura, y las características de su superficie han permitido el desarrollo de múltiples estructuras de carbón con diversas aplicaciones terapéuticas que van desde la imagen celular o tisular, la administración de principios en vehículos de liberación controlada e incluso para terapia génica.

Se han fabricado diversas estructuras de carbono, como: los nanotubos, las nanofibras, las esferas de carbón, los fullerenos, las hélices de carbón, etcétera.

Las nanoestructuras de carbón presentan ciertas propiedades características descritas por Coville *et al.*, 2011; como:

1. El carbón es un elemento de bajo peso molecular, por lo tanto las estructuras conformadas por el mismo tienden a tener un PM bajo (el PM del carbón es aproximadamente 6 veces más ligero que el hierro).
2. Las estructuras tubulares de carbón han demostrado ser las estructuras sintéticas más rígidas hoy en día.
3. Dependiendo las características estructurales y el estado de hibridación del carbono; las estructuras pueden ser conductoras, semi-conductoras o aislantes.

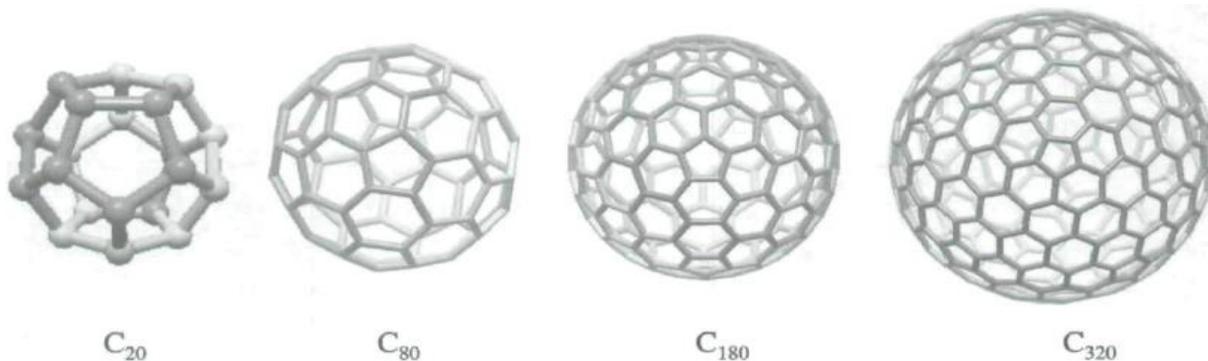
- 
4. El carbón en su estructura cristalina de diamante es el material más fuerte conocido.
  5. Estudios ópticos sobre nanotubos de carbón de capa simple reportan absorbancias cercanas a la unidad. Por lo que se hace referencia a un cuerpo negro perfecto.
  6. La conductividad térmica de las nanoestructuras de carbón varía dependiendo la estructura.
  7. La superficie de las nanoestructuras de carbono pueden ser modificables químicamente (funcionalizadas). Característica fundamental de un buen nanoacarreador de fármacos.

Las nanoestructuras de carbono más empleadas para la liberación controlada de fármacos grupos de carbono, como C<sub>60</sub> (conocidos como “buckyballs”o fullerenos). Estos últimos se están investigando por sus características antioxidantes para tratar la enfermedad de Parkinson, la esclerosis múltiple y otras enfermedades que tengan como componente estrés oxidativo y daño celular.

Los fullerenos son pequeñas esferas de pocos nanómetros de tamaño (nanoesferas), constituidas por átomos de carbono, ubicados de tal manera que forman estructuras nanométricas hexagonales y pentagonales. El fullereno más conocido es el carbono 60 (C-60), constituido por 60 átomos de carbono que forman una estructura similar a la de un balón de fútbol.

---

**Figura 42.** Representación esquemática de algunos fullerenos o bucky balls. Recuperado de: <https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/4/41/C60a.png>



Recientemente se ha descrito un fullereno soluble en agua, derivado del C-60, capaz de cruzar la membrana citoplasmática, y que se localiza preferentemente en la mitocondria. Esto abre grandes perspectivas para pretender realizar terapia génica mitocondrial. Las nanoesferas de carbono derivadas de glucosa son una clase emergente de vectores intracelulares. Las superficies de estas esferas están altamente funcionalizadas y no necesitan ninguna otra modificación. Además, la propiedad fluorescente intrínseca de las nanosferas de carbono representa una ventaja a la hora de seguir su localización celular, sin necesidad de añadir marcas fluorescentes adicionales. Estas esferas pueden dirigirse al núcleo de las células humanas, sin causar toxicidad. Los experimentos *in vivo* han demostrado que estas nanoesferas pueden atravesar la BHE y localizarse en el cerebro, así como en el hígado y bazo. Hay evidencia también de su continua remoción de estos tejidos durante el tiempo.

---

---

#### 4.5 NANOPARTÍCULAS LIPÍDICAS

El empleo de nanopartículas lipídicas representa ciertas ventajas sobre otro tipo de nanopartículas, como son una producción relativamente barata, el empleo mínimo de disolventes orgánicos, su potencial escalamiento (que las condiciones de trabajo sean las mismas independientemente de la carga de trabajo) y el hecho de poder esterilizarse para su administración intravenosa. Las nanopartículas lipídicas han mostrado perfiles de liberación sostenida, cierta eficacia para marcar su superficie y una baja toxicidad (comparada con las nanopartículas poliméricas)(Tsai *et al.*, 2012).

Estas características convierten a las nanopartículas lipídicas en un vehículo muy atractivo para la administración y vectorización de fármacos.

Cuando nos referimos a nanopartículas lipídicas, nos podemos referir a: nanopartículas lipídicas sólidas (SLN), nanocápsulas lipídicas (LNC); y más recientemente a acarreadores lipídicos nanoestructurados (NLC) y a conjugados lipído-fármaco (LDC). (Béduneau *et al.*, 2007).

Las nanopartículas lipídicas sólidas (SLN) están conformadas por una matriz lipídica sólida estabilizada mediante el empleo de surfactantes. Los lípidos más empleados para su fabricación comprenden triglicéridos, mezclas de glicéridos y ceras (característicos por mantener su estado de agregación a temperatura ambiente y a temperatura corporal).

Por desgracia las nanopartículas lipídicas sólidas presentan una baja capacidad de carga debido a la baja solubilidad de los principios en el núcleo lipófilo, así también presentan un tiempo de latencia para la liberación del contenido, mientras existe un reacomodo en las cadenas lipídicas (Tsai, 2012). Con la finalidad de mejorar la capacidad de carga y la eficiencia para entregar

---

---

principios se diseñan los acarreadores lipídicos nanoestructurados (NLC) y así como los conjugados lípido-fármaco. (Béduneau *et al.*, 2007).

En cuanto a las nanocapsulas lipídicas (LNC); estas están compuestas por núcleo líquido oleoso (triglicéridos de cadena corta) rodeados por surfactantes hidrófilos (hidroxiestereato de polietilenglicol). Estas nanocapsulas son preparadas a partir de una emulsión aceite en agua, y posterior a tres ciclos de calentamiento y enfriamiento, en un intervalo que contenga a la temperatura de inversión de fases (PIT), se genera una emulsión agua en aceite de dimensiones submicrónicas.

Las nanopartículas lipídicas sólidas y los NLC son producidos mediante cuatro técnicas: microemulsión aceite en agua (implica grandes cantidades de surfactantes y cosurfactantes), nanoprecipitación y la homogeneización a altas presiones en frío y en caliente. Para detalles sobre fabricación de nanopartículas lipídicas sólidas consultar: Kaur *et al.*, 2008 y Bondi *et al.*, 2012.

Los lípidos que han sido más investigados para la preparación de SLN y NLC incluyen al tripalmitato de glicerilo, al behenato de glicerina (comercializado como Compritol), diestereato de glicerilo (Precirol) y el cetil palmitato. El gerucilo corresponde a distintos ácidos grasos conjugados con PEG. Lo cual aporta interesantes características de emulsificación, así como también modifican la solubilidad y el tiempo de permanencia en plasma. (Bondi *et al.*, 2012).

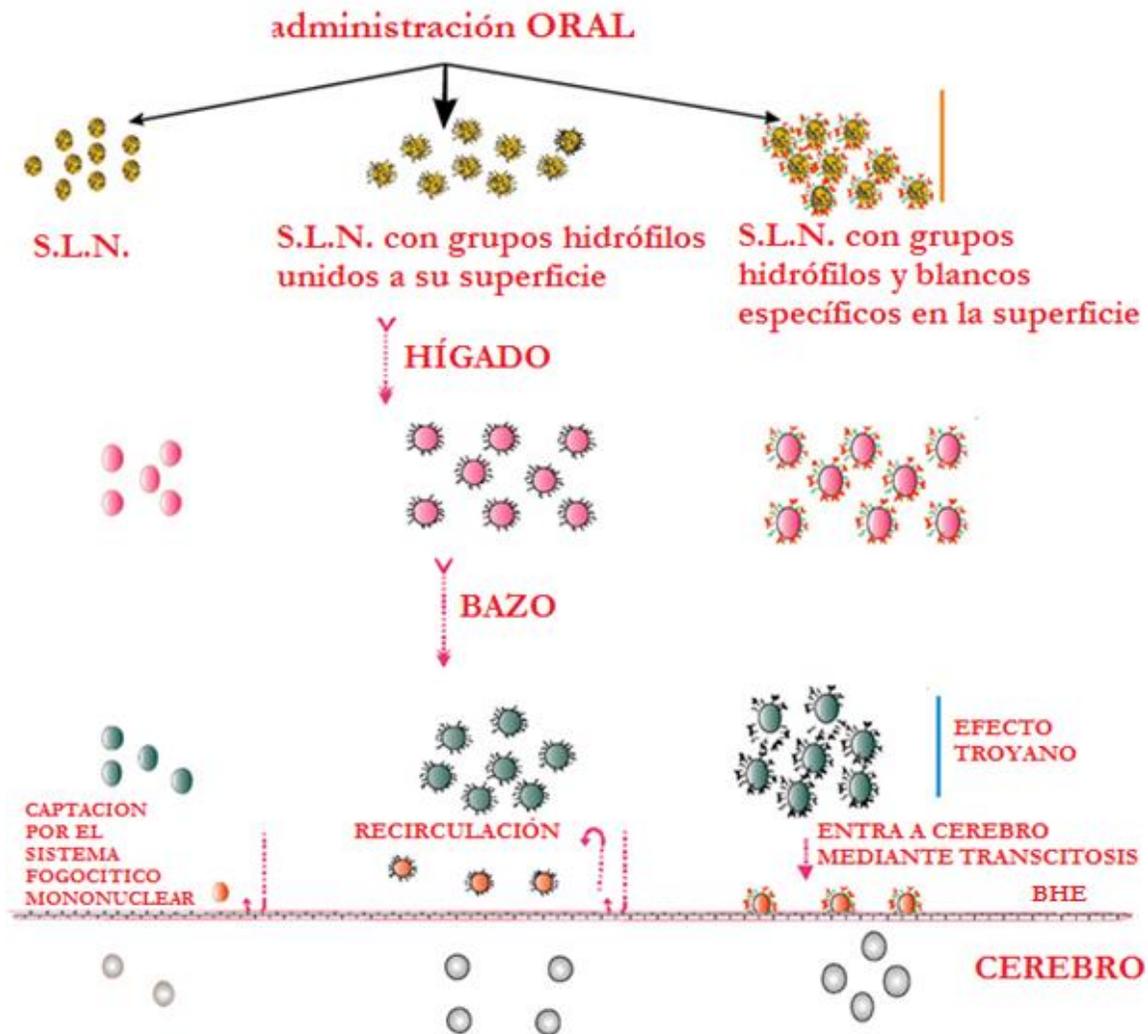
Las moléculas de PEG pueden ser unidas covalentemente para generar nanopartículas tipo stealth, es decir, que su captación por el sistema monocitario fagocítico se vea disminuido y por ende su tiempo de vida media incrementa. Estas nanopartículas mostrarán un efecto de permeación y retención habilitada (EPR). Si el tamaño de partícula es adecuada como se muestra en la figura.

---

---

Con la finalidad de incrementar la acumulación del nanoreservorio en una zona específica se pueden emplear moléculas de reconocimiento (técnica activa para vectorizar el vehículo) incorporadas a la superficie. Estas moléculas de reconocimiento pueden tener afinidad por algún receptor celular determinado, el cual, gracias a los avances en medicina molecular, se conoce su expresión o sobreexpresión en algún tejido en particular (v.gr. la sobreexpresión del receptor de Transferrina en células cancerosas) y pueden atravesar la BHE.

**Figura 43.** *Farmacocinética de distintas formulaciones de nanopartículas lipídicas sólidas. Podemos observar un grupo de SLN convencional (a la izquierda), un grupo de SLN con recubrimiento hidrofílico, como de PEG (en medio) y SLN funcionalizadas, con una cubierta hidrofílica y con moléculas de reconocimiento, estas pueden ser anticuerpos monoclonales, glucosa, etc. (derecha). Podemos diferenciar la proporción de partículas que son capaces de alcanzar el cerebro. Algunas SLN escapan a los órganos del sistema retículo endotelial (hígado y bazo) debido a su tamaño, pero cuando presentan una cubierta hidrófila se observa la dificultad para opsonizarla (marcarla por el sistema inmunitario para su posterior fagocitosis). Cuando se cuenta con un marcador de superficie observamos una mayor acumulación en el cerebro gracias al transporte mediado por los receptores. Recuperado y modificado de: Kaur et al. 2008 (esquema en la siguiente página).*



El uso de nanopartículas lipídicas sólidas ha demostrado aventajar al uso de otro tipo de nanoacarreadores. Kaur *et al* 2008, enlistan las ventajas de las SLN:

1. Las nanopartículas lipídicas que presenten un tamaño entre 120 – 200nm tendrán una captación menor por parte del sistema retículo endotelial ó SMF.
2. Se puede lograr un efecto de liberación controlada, hasta por semanas y con el recubrimiento hidrófilo se permite mejorar la liberación en una zona específica.
3. Se han podido fabricar SLN estables hasta por tres años. Gran ventaja sobre otros nanoacarreadores.

- 
4. Excelente reproducibilidad y escalamiento industrial de la técnica, empleando la homogeneización a altas presiones.
  5. Alta capacidad de carga (comparada con los liposomas)
  6. La posibilidad de emplear fármacos hidrófilos e hidrófobos.
  7. La seguridad de emplear sustancias biodegradables.
  8. Se evita el empleo de disolventes orgánicos.
  9. Facultad de someter a esterilización en autoclave.

*Tabla 5. En la siguiente tabla se agrupan las nanopartículas lipídicas fabricadas, lípidos empleados para la matriz, fármaco que contienen, el método empleado en su preparación, el o la mezcla de surfactantes empleados y su tamaño de partícula con el índice de polidispersión (que nos indica el grado de homogeneidad en el tamaño de las nanopartículas). (Kaur et al., 2008). Tabla en la siguiente página.*

Matriz Lipídica	Fármaco	Método de preparación	Tamaño de partículas (nm) [índice de polidispersión]	Surfactante
Acidan N 12	Diazepam	Microemulsificación Solidificación	70.0 [0.18]	Epikuron 200: Taurodesoxicolato [1:25]
B-CD21C6	-	Nanoprecipitación	359 [0.2]	Etanol
Palmitato de cetilo	Apolipoproteína E	Homogeneización en caliente	274 [0.091]	Polisorbato
Dynasan 114	-	Homogeneización en caliente	Nach=186 [0.219] Poloxámero= 245 [0.212]	Nach. (fosfatidilcolina de sodio) (0.5%) Poloxámero [0.5%]
Dynasan 114 [Trimiristina]	Clozapina	Homogeneización en caliente	Poloxámero: 150.2 Epikuron 200: 224.8	Poloxámero 188, Epikuron 200
Dynasan 116 [Tripalmitina]	-	Homogeneización en caliente	Nach= 260 [0.167]	Nach. [0.5%]
Dynasan 116 [Tripalmitina]	Clozapina	Homogeneización en caliente	Poloxámero= 163.3, Epikuron 200= 233.3	Poloxámero 188, Epikuron 200
Behenato de glicerol	Diazepam	Microemulsificación Solidificación	86.0 [0.15]	Epikuron 200: Taurodesoxicolato [1:25]
Monoestearato de glicerol	Mifepriestona	Homogeneización de alta cizalladura modificada y ultrasonido	106	Tween 80, Glicerol
Behenato de glicerol	Vitamina A	Homogeneización a alta presión	300-500 [0.25-0.3]	Hidropropil dialmidón Goma xantana Carbómero 940
Monoestearina	Propionato de clobetasol	Difusión disolvente inyección de disolvente	143.3 [0.22] 125-200 [0.2]	Alcohol de polivinilo Fosfolipón 906, Polisorbato 80, Poloxámero 188
Softisan 100, 142, 154	-	Inyección de disolvente	125-200 [0.2]	Fosfolipón 906, Polisorbato 80 poloxámero 188
Ácido esteárico	Diazepam	Microemulsificación Solidificación	78.5 [0.16]	Epikuron 200: Taurodesoxicolato [1:25]
Ácido esteárico	-	Homogeneización en caliente	285 [0.228]	Polisorbato 80
Ácido esteárico	Diminazeno	Homogeneización en caliente	364 [0.244]	Polisorbato 80
Ácido esteárico	Doxorubicina	Microemulsificación Solidificación	no "stealth"= 80 [0.18] "stealth"= 90nm [0.19]	Epikuron 200 [fosfatidilcolina de soja 95%] y Taurodesoxicolato
Triestearina	Clozapina	Homogeneización en caliente	Poloxámero= 96.7 Epikuron 200= 266.3	Poloxámero, Epikuron 200
Tricaprina	Ascorbilo de ácido retinóico, todo trans	Homogeneización por fundición Homogeneización a alta presión	233-487 [0.184-.208] 288 [0.177]	Tween 80 [0-100%] Tegocare 450

---

---

Como podemos observar en la tabla, existen diversos fármacos formulados en SLN. Debido a las ventajas sobre otro tipo de nano-formulaciones se pretende emplearlos como NP prototipo para vectorizar a distintos órganos cargados con diversas moléculas terapéuticas.

Bondi *et al.* (2012) recopilan información acerca de la elaboración de distintas nanopartículas lipídicas sólidas cargadas, dirigidas específicamente al cerebro. En este trabajo se describe la fabricación de SLN mediante la técnica de microemulsión, empleando Compritol 888 ATO para generar la matriz lipídica y Epikuron 200 como surfactante para estabilizar el sistema. Obteniéndose SLN caracterizadas con 88nm de diámetro y un índice de polidispersión de 0.24. Y mediante una curva de calibración y el uso de cromatografía líquida de alta resolución, se determina que el porcentaje de fármaco en peso es de 14.5% (p/p).

Bondi *et al.* (2012) compararon el efecto neuroprotector del rulizol en solución y formulado en SLN, sobre un modelo de ratas con esclerosis múltiple (inducida mediante encefalitis alérgica experimental). Tras ser administradas por la misma vía, a la misma dosis y después de 14 días 6 ratas del lote control desarrollaron consistentemente la enfermedad, mientras que 4 ratas de ese mismo lote no sobrevivieron. En contraste con el lote tratado con SLN cargadas con rulizol, en el cuál se presentó ningún deceso. Este estudio demostró no solo la acumulación de rulizol en el cerebro, sino que también denotó una menor distribución a otros tejidos, lo que conlleva menos efectos adversos.

De manera análoga, se fabricaron SLN cargadas con ácido ferúlico (actividad antioxidante y antiinflamatoria; se ha observado que éste desestabiliza las placas amiloides características de la enfermedad de Alzheimer) mediante la técnica de microemulsión, empleando Compritol 888 ATO para la matriz, Epikuron 200 como surfactante y taurocolato de sodio como cosurfactante. Se ha observado que la proteína  $\beta$ -amiloide es participe en la formación de especies reactivas

---

---

de oxígeno y estas a su vez dañan a las células induciendo la activación de la caspasa-9 (que conlleva a la destrucción celular o apoptosis). En este estudio se observó que el tratamiento con ácido ferúlico protegió a un 100% de las ratas de los efectos dañinos de las especies reactivas de oxígeno.

Este equipo de investigación denotó la conveniencia de formular algunos fármacos con nanopartículas lipídicas sólidas, demostrando mayor eficacia cuando administraron SLN cargados con atazanavir, camptotecina, curcumina y el diminazeno.

Kasongo *et al.* (2011) estudiaron la influencia de los surfactantes empleados y la adsorción selectiva de apolipoproteínas en su superficie. La matriz polimérica se sintetizó empleando una mezcla de Precirol® ATO 5 (Diestereato de glicerol) y de Transcutol® HP (Éter monoetílico de dietilenglicol altamente purificado), empleando Solutol® HS 15 (Ácido 12-hidroxiesteárico polioxietilado) como surfactante y una mezcla ternaria de Solutol® HS 15, Tween® 80 (Polisorbato 80) y Lutrol® F68 (bloque polioxietileno-polioxipropileno copolímero de fórmula general). Se ha observado la absorción preferencial de la apolipoproteína E en nanoacarreadores recubiertos con polisorbato 80 (Tween® 80). Al realizar el estudio se comprobó que solamente las nanopartículas estabilizadas con Solutol y con la mezcla ternaria demostraban una adsorción considerable de la apolipoproteína E (Tween® 80 ya lo ha demostrado, Sun *et al.* en 2004). Lo que facilitaba su migración a través de la BHE, ya que se aprovecha la afinidad que tiene la apolipoproteína E por el receptor de lipoproteínas de baja densidad (LDLR) presente en el cerebro. (Kasongo *et al.*, 2011)

Tsai *et al.* (2012) desarrollaron acarreadores lipídicos nanoestructurados con dimensiones alrededor de los 100nm compuestas de tripalmitato de glicerol, geluciros (diversos esteres de glicerol), vitamina E, fosfolípidos y poloxamero 188. Estos NLC se cargaron con baicalina, un

---

---

flavonoide obtenido de la raíz de la *Scutellaria baicalensis*, dadas sus propiedades antiinflamatorias y antioxidantes se pretende que la formulación se emplee como neuroprotector en ACV hemorrágicos o isquémicos. En este estudio se demostró que el empleo de la vitamina E ( $\alpha$ -tocoferol) y otros tocoles auxilian a la estabilidad de la formación. Los tocoles resultan excelentes solventes para los fármacos insolubles en agua, aparte estos son compatibles con los surfactantes, lípidos y los cosurfactantes empleados. Otra ventaja del empleo de los tocoles en la formulación de nanopartículas lipídicas son sus propiedades biodegradables, su prolongada estabilidad física y su relativamente fácil producción a gran escala. Los resultados indican una clara mejoría en comparación con la solución de fármaco libre, tanto en los parámetros farmacocinéticos, como en su distribución específica.

Es importante denotar que el empleo de los tocoles y de geluciros en la formación de la matriz lipídica ha resultado ser efectivo para incrementar la permeación a nivel barrera hematoencefálica. También es importante resaltar que Béduneau *et al* (2008) denotó la habilidad del Solutol HS15 para inhibir la actividad de glicoproteína-P. Esto lo demostraron empleado al solutol como estabilizante en la formulación de nanocapsulas lipídicas. Es de considerable importancia experimentar con el empleo de antioxidantes como la vitamina E y C para la prevención de daño celular por origen oxidativo. Aunque es necesario investigar más acerca de una posible atribución que se ha reportado entre vitamina E y que ésta facilite el sangrado en casos de traumatismo (Brailowsky *et al*, 2004).

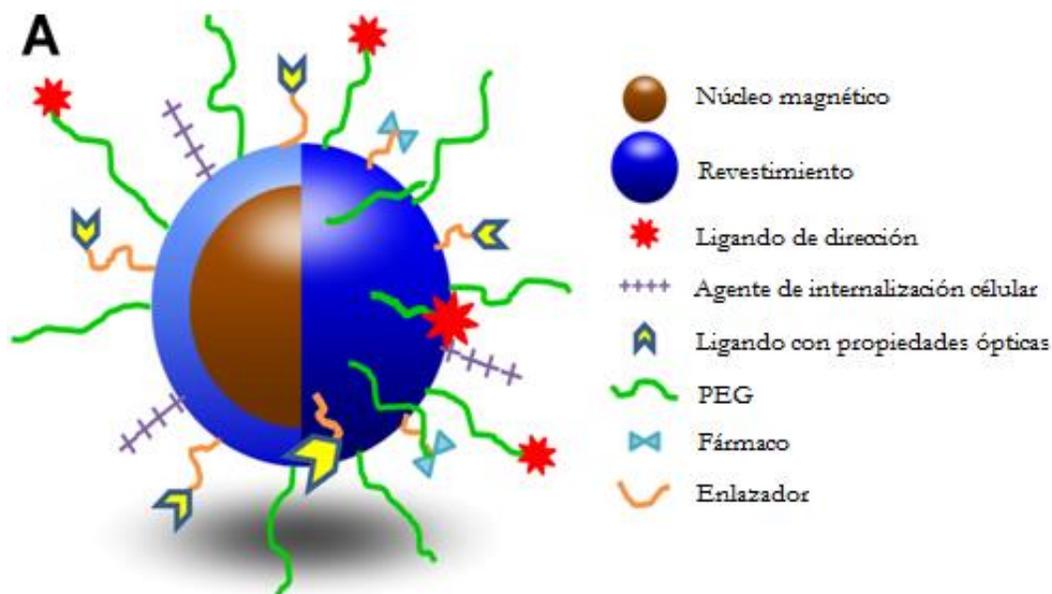
#### 4.6 NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS

Las nanopartículas con propiedades magnéticas de óxidos metálicos han llamado la atención de los investigadores ya que a diferencia de otras nanopartículas, estas pueden ser influenciadas externamente mediante la aplicación de un campo magnético.

---

Las nanopartículas magnéticas (MNP) consisten generalmente en un núcleo de aproximadamente 50 nm con propiedades magnéticas. A pesar de que el uso de núcleos más voluminosos mejoraría las propiedades magnéticas, las partículas con un diámetro hidrodinámico más grande han demostrado tener menores tiempos de vida media y por lo tanto, tienen menores probabilidades de acceder al sitio de acción. Otra posible estrategia para modificar el tamaño sin alterar las propiedades magnéticas de manera considerable es la reducción en el grosor de la cubierta.

**Figura 44.** Representación de una nanopartícula magnética multifuncionalizada. El núcleo está formado por un óxido metálico y se encuentra recubierto por un materia biocompatible (polisacáridos, lípidos, proteínas, ligandos de silano, etc.) Recuperado y modificado de: Liu et al. 2010



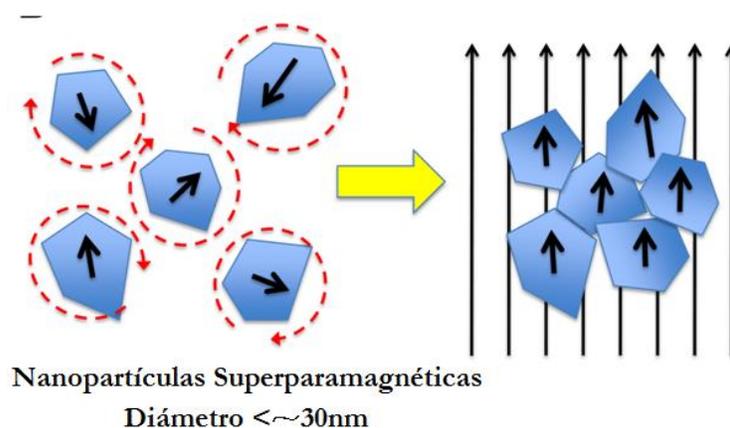
Actualmente la mayoría de la investigación realizada con nanopartículas magnéticas se enfoca en el tratamiento de tumores. Se ha explorado la capacidad de emplear a las nanopartículas magnéticas como nanoacarreadores de fármacos. Otra línea de investigación actual implica la

---

combinación de la resonancia magnética y el ultrasonido focalizado, pero esta técnica se describirá más adelante.

**Figura 45.** *Influencia del campo magnético sobre las MNP. Observamos una alineación del momento magnético de cada partícula con el gradiente magnético originado por el campo.*

*Recuperado y modificado de: Liu et al. 2010*

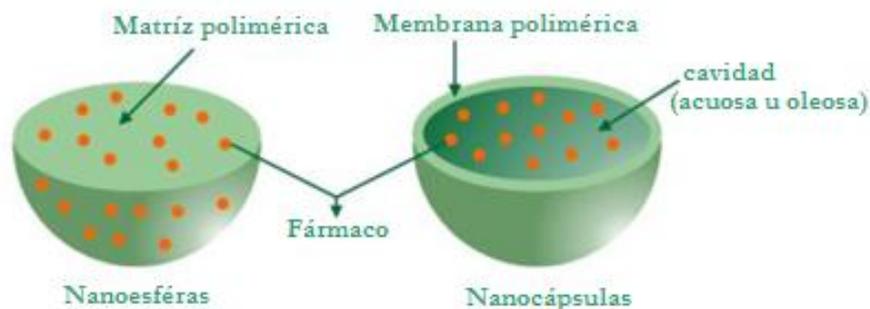


#### 4.7 NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS

Cuando nos referimos a nanopartículas poliméricas nos referimos indistintamente a nanoesferas (matrices sólidas heterogéneas con el fármaco embebido o adsorbido) y nanocapsulas (núcleos líquidos delimitados por una membrana polimérica) las cuales se producen a partir de polímeros naturales o sintéticos cuyas dimensiones oscilan entre los 10 nm y 1000 nm.

**Figura 46.** Representación de los dos tipos generales de nanopartículas poliméricas.

Recuperado y modificado de: <http://www.scielo.br/img/revistas/qn/v26n5/17209f1.gif>

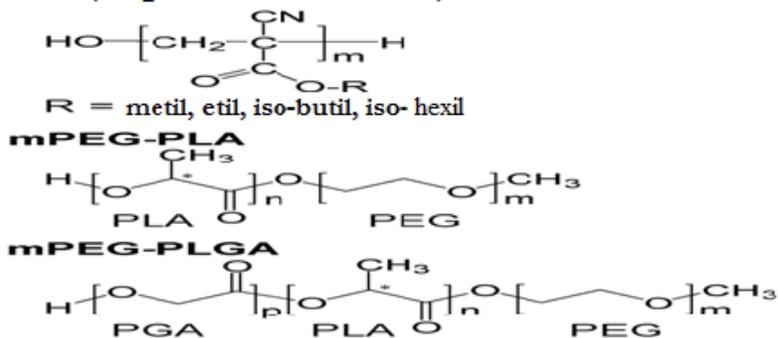


Para su fabricación se han empleado algunos polímeros biodegradables, como el ácido poliláctico (PLA), el ácido poliglicólico (PGA), quitosán, polímero polialquilcianoacrilato (PACA), poli(lisina), poli(Aspartato). Estas NP pueden prepararse a partir de polímeros preformados o mediante la polimerización de monómeros *in situ*.

**Figura 47.** Algunos polímeros y copolímeros empleados para elaborar NP poliméricas.

(Olivier, J.C. 2005)

### Poli(alquilcianoacrilato)



Un gran número de nanopartículas emplean al PLA y al PGA combinados en diferentes proporciones (Shen *et al*, 2011) dado que son polímeros biodegradables y biocompatibles, es

---

decir, el cuerpo puede procesarlos y los productos de degradación se acoplan en algún ciclo metabólico del cuerpo (Béduneau *et al.*, 2007). Aunque es necesario una extensa revisión dados los problemas de toxicidad que ha demostrado algunos polímeros como PACA. Para una detallada explicación acerca de los métodos de producción de nanopartículas dirigirse a la tesis de De la Cruz M., Maricela (2010).

En este tipo de nanoacarreadores se pueden incorporar tanto fármacos hidrófilos, como fármacos hidrófobos, dependiendo la naturaleza de los polímeros empleados para construir la matriz polimérica.

Con la finalidad de crear nanopartículas con una menor captación fagocitaria, se diseñaron nanopartículas cubiertas con PEG (esto también disminuye su toxicidad). Esta cubierta se incorpora mediante enlaces covalentes. Con esta estrategia se mejoraron drásticamente los tiempos de vida media de las nanopartículas. Otra estrategia empleada para mejorar esta condición fue el empleo de polímeros hidrófilos como fue el empleo de quitosán, la maltodextrina, el alginato y la gelatina. El quitosán parece una propuesta bastante aceptable, dadas sus propiedades biodegradables y no tóxicas, para la formulación de nanopartículas poliméricas.

Los polímeros más empleados son los monómeros de alquilcianoacrilatos. El método de polimerización *in situ*, la capacidad de cargar fármacos de diferente naturaleza química y su tamaño adecuado (50- 300 nm) los convierte en un vehículo considerablemente útil para acarrear fármacos hacia el cerebro. Lamentablemente este panorama se empaña por tener problemas de toxicidad (LD<sub>50</sub> en ratón de PBCA es 230mg/kg; Olivier, J.C., 2005).

Shamenkov, Petrov y Alyautdin (2006) reportan la producción de nanoesferas de polibutilcianoacrilato (PBCA) cargadas con dalargin (analgésico) y las diferencias

farmacocinéticas consecuentes al recubrimiento de las partículas. Concordando con otros experimentos (Kasongo *et al.*, 2011; Sun *et al.*, 2011) las nanopartículas recubiertas con polisorbato 80 y supercubiertas con apolipoproteína E atraviesan considerablemente la BHE.

## 5 ESTRATEGIAS EMPLEADAS PARA DIRIGIR UN NANOACARREADOR AL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

Existen estrategias pasivas y activas para incrementar la concentración de una sustancia particular en el cerebro. Alguna estrategia pasiva sería el recubrimiento que permita la adsorción de macromoléculas. Las estrategias activas implican la unión de algún ligando que permita el reconocimiento de un sistema biológico de transporte como se muestra en la **tabla 6**.

**Tabla 6.** *Diferentes formulaciones en investigación, dirigidas para tratar tumores en el cerebro (Béduneau et al. 2007).*

Nanotransportador	Sistema de focalización	Ligando	Fármaco/gen	Tipo de estudio	Resultados relevantes
Liposoma con PEG	TfR	Tf	5-FU	<i>In vivo</i>	Acumulación en CECS
Liposoma con PEG	FR	FA	Doxorrubicina	<i>In vitro</i>	Incremento de la absorción en las células de glioma C6
Liposoma con PEG	TfR	OX26 MAb	Daunomicina	<i>In vivo</i>	Mayor entrega de daunomicina en tejido cerebral
Nanopartícula PEG-PLA	sitios aniónicos	CBSA	pDNA	<i>In vivo</i>	Localización en las células del ratón y la liberación de pDNA en los núcleos
Nanopartícula PEG-quitosán	TfR	OX26 MAb	-	<i>In vivo</i>	Captación cerebral mejorada
SLN	Transportador de tiamina	Tiamina	-	<i>In vivo</i>	Asociación con la BHE y mejora de la permeabilidad cerebral
LNC	TfR	OX26 MAb y Fab' fragmento de OX26 MAb	-	<i>In vivo</i>	Captación cerebral mejorada

---

---

## 5.1 TRANSPORTE MEDIADO POR EL ACARREADOR (CMT)

Los sistemas de transporte mediados por un acarreador se encuentran de manera ubicua en los capilares cerebrales. Éstos medían el ingreso de nutrientes fundamentales para el mantenimiento de la homeostasis cerebral. Considerando lo anterior, la manipulación de estos transportadores podría resultar en una estrategia eficaz para establecer una terapia farmacológica dirigida al cerebro. Bajo este concepto se desarrollaron las nanopartículas que contienen algún ligando conjugado o adsorbido en la superficie de la nanopartícula. Ya que contribuye a su distribución específica en algunos órganos del cuerpo, como el cerebro en nuestro caso particular.

Existe una demanda considerable de éste órgano de oxígeno y de glucosa. El oxígeno puede migrar por difusión pasiva debido a su bajo PM y ausencia de carga, como la mayoría de las moléculas hidrófilas de bajo PM difunde pasivamente por la vía paracelular. Mientras que la glucosa depende de un sistema de transportadores como se describió en el capítulo sobre BHE. En las CECSC y en las células epiteliales del plexo coroideo se expresa principalmente la isoforma del transportador de glucosa GLUT1. Pudiendo transportar moléculas análogas que presenten patrones estructurales similares como la 2- deoxiglucosa, la galactosa, la manosa y análogos de la glucosa. Se ha observado la sobreexpresión de GLUT1 (Stoss y Henkel, 2004) en algunos tipos de cáncer cerebral como los hemangioblastomas (tumores del SNC que se originan en algún sistema vascular), mientras que este receptor se encuentra subexpresado en pacientes con glioblastoma multiforme. La isoforma GLUT3 es la que se expresa en neuronas saludables y en gliomas desarrollados. Por lo tanto, se consideraría más útil un ligando que tenga más afinidad por el GLUT1. Como lo hizo Ying *et al.* (2010), formulando liposomas con un derivado de manosa en su superficie.

---

---

Qin *et al.* (2010) prepararon liposomas modificados, dónde el hidróxilo del colesterol se empleaba como vía de unión para algunos derivados de glucosa y con glucosa; demostrándose la potencial aplicación de este liposoma funcionalizado mediante la unión de glucosa al colesterol.

Otro transportador de interés biológico es el de colina. Está constituido por un dominio aniónico que interactúa con la amina cuaternaria de la colina, aunque también puede interactuar con cargas positivas de grupos amonio y otros cationes. Este transportador es fundamental para proveer este precursor del neurotransmisor acetilcolina y también al precursor de la membrana en la fosfatidilcolina. También puede interactuar con otras aminas cuaternarias como la carnitina y la tiamina. En condiciones fisiológicas no se observa saturación del receptor de colina. Por lo tanto este puede ser un potencial sitio para transporte. Omidi y Barar (2012) indican que al recubrir diversas nanopartículas con dipalmitoil fosfatidilcolina y con tiamina se obtienen concentraciones hasta 4 veces comparadas con el control, pero sin modificar la permeabilidad paracelular; esto denota la existencia de un transportador de colina.

Empleando el transporte mediado por el acarreador implicaría una interacción del nanoacarreador con el entorno biológico, así como se considera que existe una competencia del acarreador, en el transportador, con los ligandos endógenos.

## 5.2 TRANSPORTE MEDIADO POR EL RECEPTOR (RMT)

Mientras que, en el transporte mediado por el acarreador, el receptor tiene afinidad por varios ligandos endógenos, análogos o por un grupo funcional específico (como es el caso del receptor de colina), en el sistema de RMT existe una mayor especificidad y se transportan moléculas de mayor tamaño. Este se produce mediante la formación de una vesícula endocítica.

---

---

Béduneau, 2007, considera que existen cuatro rutas posibles para el acarreador a nivel intracelular:

- Los receptores descubren la vesícula y se reciclan (retornan a la superficie celular); la vesícula se fusiona con el lisosoma y se produce la liberación intracelular del fármaco.
- Existe la fusión y degradación tanto de las vesículas como de los receptores.
- Tanto receptor como ligando pueden ser reciclados (retroendocitosis).
- La vesícula unida al receptor migra hasta otro dominio celular (transcitosis).

El sistema de RMT empleado para acarrear fármacos hasta su sitio de acción depende de la funcionalización de las nanopartículas con dos tipos de ligandos: a) los ligandos endógenos (transferrina, insulina, ácido fólico, etcétera) y b) las inmunoglobulinas que reconozcan la secuencia específica de un determinado receptor (anticuerpos monoclonales dirigidos a un receptor).

Las vesículas estabilizadas por clatrina son más inestables y éstas se acidifican lo que puede liberar el contenido de los nanoacarreadores y producir concentraciones tóxicas. Las vesículas relacionadas a la clatrina tienen una nube densa de electrones y median endocitosis y la fusión con el lisosoma.

En cambio los caveosomas o vesículas estabilizadas vía caveolar median transcitosis pues están totalmente equipadas con proteínas como dinamina, inestectina-2, SNAP 23 y 25, anexinas II y IV y v-SNARE. Todas ellas implicadas en la invaginación y fisión de la membrana para formar una vesícula, en la interacción de la vesícula con el citoesqueleto de actina, su desplazamiento transcelular y la fusión con la membrana abluminal que permite la transcitosis. Recordemos que existen los denominados receptores de "vida" como el receptor de LDL, HDL, EGF, TNF, Albúmina, Tf, melanotransferrina, lactoferrina, ceruloplasmina, transcobalamina, leptina,

---

---

insulina, PDGF, VEGF, bradicinina (B2R), endotelina (ET<sub>A</sub>) y de estrógenos (ER  $\alpha$  y  $\beta$ ). Y también de "muerte" relacionados con la muerte celular programada como el p75 y el receptor a IL-1. Todos ellos relacionados con transcitosis, que es lo más importante para nuestro tema. Esto nos indica lo importante que es la elección de un ligando o recubrimiento adecuado para vectorizar una nanopartícula.

### 5.2.1 Empleo de Ligandos

Durante muchos años se empleó insulina, transferrina y ácido fólico como ligandos para dirigir específicamente al cerebro un sistema nanoacarreador terapéutico. La principal ventaja en emplear ligandos endógenos constituye su gran afinidad tanto en cerebro, como en células tumorales. Aparte, estos ligandos son biocompatibles y no inmunogénicos.

Se ha mencionado antes acerca de la alta expresión de receptores de insulina en los capilares cerebrales. Ahora mencionaremos que también se encuentran altamente expresados en tejidos cancerosos. Por lo que su potencial aplicación como ligando en acarreadores terapéuticos se hace evidente, sobre todo en el tratamiento de tumores cerebrales (terapia tan complicada y con un pronóstico tan desfavorable hoy en día: glioblastoma multiforme y astrocitoma tienen un tiempo de supervivencia de 1 año). También se ha intentado acoplar la insulina a liposomas. Pero el uso de insulina como una molécula de transporte conlleva varias complicaciones inherentes a su actividad biológica (hipoglucemiante) y a sus propiedades físico-químicas. Aun así muchos grupos de investigadores continúan la investigación dirigida a los receptores de insulina, debido a su elevada expresión en las CECSC. Pero enfocándose en explotar la presencia de los transportadores y no empleandola como ligando, dadas sus desventajas.. Para ello se ha empleado anticuerpos monoclonales dirigidos contra el receptor humano de insulina

---

---

(HIRMAb). El receptor de insulina tiene un  $K_D < 1\text{nm}$  por el ligando y no se encuentra saturado a nivel fisiológico.

También se han desarrollado nanopartículas marcadas con factor de crecimiento similar a la insulina, ya que se ha reportado (Omidi y Barar, 2012) que IGF-I y II son endocitados en células endoteliales de capilares cerebrales *in vitro*. Lamentablemente existe una alta interacción entre las IGF de las nanopartículas y las proteínas plasmáticas que se unen a IGF. Esto altera significativamente su eficacia para dirigir el tratamiento a una zona específica.

La transferrina es una glicoproteína de cadena simple, con un peso molecular de aproximadamente 95 KDa, que transporta específicamente hasta dos átomos de hierro. El receptor de transferrina se encuentra altamente expresado en las CECS y en células cancerosas; mientras que su nivel de expresión en tejidos normales es relativamente bajo. Desafortunadamente los receptores de transferrina se encuentran saturados bajo condiciones fisiológicas, debido a la concentración de transferrina endógena.

Existen diversas formulaciones de nanopartículas que emplean a la transferrina como ligando de dirección específica. Por ejemplo, su acoplamiento a liposomas tipo stealth (con PEG). Omidi y Barar (2012) enuncian la dificultad que presentan liposomas con PEG de tamaño entre 140nm y 180nm. Relacionándolo con el mecanismo de endocitosis auxiliado por la clatrina. Entonces resulta fácil de comprender la limitación espacial de la endocitosis. Un análisis farmacocinético denotó un incremento considerable en captación de liposomas de 80nm de diámetro funcionalizados con Tf, en comparación con los liposomas sin Tf. En este mismo estudio se observa el efecto estérico (debido a la conformación espacial) que tiene la unión del PEG a la superficie sobre la unión de los ligandos a su receptor. Este efecto resulta en una disminución de la ocupación de receptores, por lo tanto una captación insuficiente del principio.

---

---

Ying *et al.* (2010) reportan la producción de liposomas funcionalizados para emplearse en quimioterapia. Estos liposomas marcados con un derivado de manosa y transferrina resultaron notablemente eficaces para el tratamiento de glioma C6 humano implantado en ratas, donde su uso significó un tiempo de vida mayor, de aproximadamente 25% (22 días de tiempo medio de supervivencia con los liposomas, comparado con 17 días del tratamiento en solución acuosa).

Huang *et al.* (2013) propusieron emplear como ligando de dirección a la lactoferrina (proteína globular de 80 kDa perteneciente a la familia de las transferrinas, aprovechando su expresión y disponibilidad). Los estudios muestran una concentración hasta 3 veces más grande en el cerebro de ratón comparada con la concentración en cerebro de los liposomas tipo stealth.

Para conocer la diferencia entre emplear transferrina y lactoferrina como ligandos emplearemos los estudios realizados por Huang *et al.* (2008), donde reportan índices de poco más del doble de captación cerebral y de expresión génica al emplear dendrímeros funcionalizados tanto con Tf y con Lf.

Mediante técnicas de inmunohistoquímica y empleando reacciones en cadena de la polimerasa de transcriptasa inversa (RT-PCR) detectó la presencia del receptor de lactoferrina en el cerebro. Este grupo de investigadores caracterizaron al receptor de lactoferrina, encontrando que existen dos sitios de unión. Determinaron la afinidad de la lactoferrina por cada sitio de unión y encontraron que a la concentración fisiológica de lactoferrina (5nM), no hay saturación de receptores. Esto convierte a la lactoferrina en un ligando muy útil para la vectorización de nanoacarreadores.

Otro ligando de gran importancia para la vectorización cerebral de nanoacarreadores es el folato y su análogo el 5-metiltetrahidrofolato. Estos nutrientes son transportados a través de tres

---

---

mecanismos: a) el acarreador de folato reducido, b) el receptor de folato (FR) y c) por la bomba de eflujo de folato.

También conocida como vitamina B9, el ácido fólico es una vitamina hidrosoluble del complejo de vitaminas B necesaria para la formación de proteínas estructurales y hemoglobina. Se requieren la síntesis de purinas (compuestos que forman parte de los nucleótidos, sustancias presentes en el ADN y el ARN), necesarias para la síntesis y división celular. Razón por la cual encontramos una sobreexpresión del receptor de folato en células cancerosas. Se ha reportado este acontecimiento en tumores de ovario y de cerebro.

El receptor de folato se expresa en pocos tejidos de manera normal, como es en la glándula tiroidea, en el riñón, en el plexo coroideo y en la BHE. (Béduneau *et al.*, 2007).

Estudios realizados por Pardridge (2010) denotan que el receptor de folato presente en la barrera hematoencefálica media la transcitosis del ácido fólico y del MTF. Otros estudios demuestran una acción específica en tumores cerebrales al emplear liposomas funcionalizados con folato. Obteniéndose mejores resultados al marcar la superficie de la molécula.

Se han desarrollado diversos sistemas terapéuticos que incluyen al folato en su superficie como elemento de vectorización. Entre éstos encontramos liposomas, nanopartículas poliméricas, micelas poliméricas, dendrímeros y también nanopartículas lipídicas sólidas. (Béduneau *et al.* 2007).

Considerando todos los hechos anteriores, podemos decir con veracidad que la conjugación de nanoacarreadores con biomoléculas endógenas como insulina, glucosa, folato, Lf, es una de las herramientas más útiles cuando deseamos dirigir una terapia específicamente al cerebro. Aun así no debemos olvidar que estas moléculas cuentan con una actividad biológica y, por

---

---

consecuencia, tienen la capacidad de unirse a su receptor y generar determinados cambios biológicos.

También se han empleado péptidos que poseen secuencias semejantes o iguales a macromoléculas. El péptido COG13 es APOEmimético (LRVRLASHLRKLRKRL), tmb existen péptidos con los residuos 141-150 en forma de monomero y dímero que son transportados mediante el receptor de LDL que produce transcitosis.

Existen estudios que evidencian la posibilidad de emplear ligando derivados o relacionados a virus como es: la glicoproteína del virus de rabia 29 (RVG29), los péptidos TAT que son derivados del VIH, el péptido gH625 (obtenido a partir de *Herpes simplex*). Y de orígenes diversos como el péptido penetratin obtenido de la mosca *Drosophila*, el péptido synB (16 aminoácidos) y pegelin de 18 aminoácidos.

### 5.2.2 Uso de Anticuerpos Monoclonales

Los anticuerpos monoclonales son inmunoglobulinas (proteínas con la capacidad de reconocer a una molécula específica que sea ajena al cuerpo; denominada antígeno) generadas en bazo y linfocitos B tras la exposición a un antígeno. Estas células se immortalizan con células tumorosas, generando hibridomas. Estos hibridomas tienen la capacidad de reproducirse igual que las células neoplásicas, pero también tienen la capacidad de sintetizar anticuerpos. Se definen como monoclonales porque provienen de una sola célula.

Los anticuerpos monoclonales, en general, se unen a un dominio extracelular del receptor diferente al lugar de unión del ligando endógeno; por lo tanto, no hay interferencia, es decir, no compiten por unirse al receptor. El anticuerpo monoclonal OX26 (IgG2a) está dirigido contra el receptor de transferrina de murino. Estudios han demostrado la capacidad de atravesar la BHE cuando se emplea OX26 como marcador de superficie de dirección.

---

---

Béduneau *et al* (2008), desarrollaron nanocápsulas lipídicas dirigidas al cerebro mediante el empleo del anticuerpo monoclonal OX26. También se comparó la actividad cuando solamente se unía la fracción Fab del anticuerpo; esto con la finalidad de disminuir la captación por parte de las células del sistema monocítico fagocitario. En este estudio, las nanocápsulas lipídicas que contenían al anticuerpo en la superficie demostraron una distribución adecuada (nos referimos a que se encontró una mayor concentración en el tejido deseado).

Zhang *et al.* (2002) desarrollaron inmunoliposomas que contienen dos marcadores de dirección. Ambos anticuerpos monoclonales; el anticuerpo monoclonal 8D3 de rata dirigido al receptor de transferrina de ratón y el anticuerpo monoclonal dirigido para el receptor humano de insulina. Estos anticuerpos se conjugaron a liposomas con PEG que reportaron dimensiones menores a 100nm.

El anticuerpo monoclonal 8D3 permite cruzar la BHE mediante transcitosis, mientras que el anticuerpo 83-14 dirigido hacia el receptor humano de insulina, permite la endocitosis en células tumorales. Estos inmunoliposomas se cargaron con ARNm mensajero antisentido que codifica para el receptor del factor de crecimiento epidermal. Se administraron vía intravenosa en modelos animales de ratones con tumores cerebrales U87 implantados.

En los resultados se observó un incremento en el tiempo de supervivencia; considerablemente mayor comparado con el grupo tratado con solución salina de ARNm.

Al considerar las ventajas que implican el uso de anticuerpos monoclonales sobre los liposomas para dirigir efectivamente una terapia se desarrollaron otros sistemas nanoparticulados que los empleen, como son: las micelas poliméricas, nanopartículas poliméricas y nanopartículas lipídicas sólidas.

---

---

Las micelas poliméricas modificadas con ácidos grasos conjugados con la fracción Fab de los anticuerpos dirigidos a células gliales, produjeron un incremento en la actividad del fármaco encapsulado (relacionado con una mayor concentración del fármaco en su sitio de acción). Estos vectores micelares han sido empleados para la entrega de fármacos específicamente al cerebro, se han formulado para fármacos neurolépticos y antineoplásicos principalmente.

### 5.3 ENDOCITOSIS MEDIADA POR ADSORCIÓN (AME)

Este tipo de procesos se encuentran regidos por interacciones electrostáticas entre una sustancia que contenga una carga neta positiva circundante en sangre y la carga negativa de la superficie de la membrana conferida por la presencia de ácido siálico.

La cationización de proteínas mediante la modificación química con hexametildiamina transforma los grupos carboxilo de una proteína a grupos amino primarios (-NH<sub>2</sub>). Generando que a pH fisiológico existan un mayor número de nitrógenos protonados (Béduneau *et al.*, 2007). Esta estrategia incrementa la acumulación en los tejidos cerebrales, pero disminuye el tiempo de circulación significativamente. Su grado de depuración obedece una cinética de primer orden (la velocidad depende de la concentración y el grado de cationización). Un valor de referencia para considerar el grado de aclaramiento, es el punto isoeléctrico de la sustancia. Si este es igual o mayor a 10 entonces se considera que se eliminará rápidamente de la circulación sanguínea, con un tiempo aproximado de vida media de 1 minuto. La endocitosis mediada por adsorción de albúmina cationizada, no fue específica en el cerebro, sino que también se realizó en el riñón, hígado y en menor grado en los pulmones y el corazón.

Inicialmente se emplearon las proteínas cationizadas como caballos troyanos, es decir, unidos a la sustancia que se desea transportar. Pardridge (2010) describe el empleo de albúmina

---

---

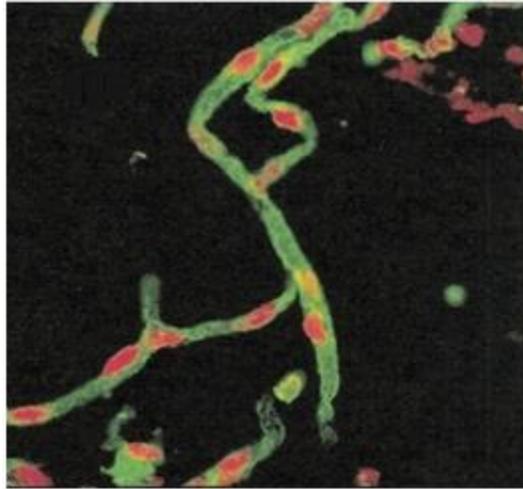
cationizada unida a la  $\beta$ -endorfina (un péptido impermeable a la BHE), resultando en la captación cerebral del péptido.

La aplicación de este concepto se considera al formular liposomas conjugados con albúmina y albúmina cationizada (Thöle *et al.*, 2002). Este grupo comparó el grado y la velocidad de captación intracelular de la albúmina y de su análogo cationizado. Descubriendo que, solamente la albúmina cationizada se unía a las células endoteliales de capilares sanguíneos (en un modelo *in vitro*) y esta unión generaba un incremento considerable de la captación intracelular de los liposomas, cargados con marcadores fluorescentes, dependiente del tiempo. Añadieron distintos sustratos para comprobar la vía caveolar de endocitosis, de la siguiente manera: Si el transporte de los liposomas es inhibido cuando se añaden grandes concentraciones de albúmina cationizada, de fenilarsenóxido, nocodazole y filipina (sustratos conocidos de la endocitosis caveolar), mientras que al añadir dansilcadaverina no se inhibe el transporte. Por esta razón se deduce la vía caveolar.

Considerando lo anterior se conjugaron marcadores radiactivos a anticuerpos dirigidos contra la caveolina. Denotando una gran expresión de esta a través de los capilares sanguíneos.

---

**Figura 48.** En este esquema se pueden apreciar los capilares sanguíneos obtenidos mediante microscopía confocal laser de barrido. Los capilares aislados en un co-cultivo con anticuerpos monoclonales de conejo dirigidos contra la caveolina humana. En rojo observamos el núcleo de las células y en verde observamos a la caveolina. Recuperado y modificado de: [http://www.nature.com/scitable/content/ne0000/ne0000/ne0000/ne0000/14458130/f4\\_parton\\_nrm2122-f1.jpg](http://www.nature.com/scitable/content/ne0000/ne0000/ne0000/ne0000/14458130/f4_parton_nrm2122-f1.jpg)



#### 5.4 RECUBRIMIENTO DE NANOACARREADORES

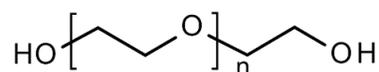
El revestimiento de nanoacarreadores empleando surfactantes hidrofílicos ha demostrado ser una herramienta muy útil no solo para disminuir la captación por el sistema monocítico fagocitario, sino también facilita la unión de ligandos en el grupo funcional hidroxilo al final de cada cadena de PEG como se muestra en la **figura 49**. En general, los nanoacarreadores con superficie hidrófoba propiciarán la adsorción de macromoléculas endógenas y; los nanoacarreadores que contengan cargas negativas en su superficie propiciarán la activación del sistema del complemento (complejo proteínico involucrado en la apoptosis celular) así como de algunos factores de coagulación. Por ende cualquier recubrimiento con partículas hidrofílicas

---

---

tenderá a estabilizar estéricamente, esto es, generar un espacio entre la superficie del nanoacarreador y las proteínas circundantes. Resultando en un mayor tiempo de circulación sanguínea.

**Figura 49.** Estructura del Polietilenglicol (PEG).



El polímero hidrofílico más empleado es el polietilenglicol (PEG). El PEG denota una alta hidrofiliidad (obtenida gracias a los múltiples átomos de oxígeno presentes en su estructura), flexibilidad en su cadena (ya que solo cuenta con enlaces sencillos), es eléctricamente neutro y el único grupo funcional susceptible a reacciones químicas es el hidroxilo terminal. Se ha sugerido el empleo de PEG para recubrimiento con un peso molecular entre 2000 y 5000; para evitar la adsorción de proteínas plasmáticas. También se observó que mientras más gruesa es la capa de PEG (mayor peso molecular) más lento se vuelve su aclaramiento (parámetro farmacocinético que evalúa el grado en que la sangre se “limpia” de la sustancia) (Kaur *et al.*, 2008).

Cuando se incrementa el tamaño del acarreador por acción del recubrimiento con PEG también se disminuye la filtración glomerular que se lleva a cabo en riñón. Esto permite una mayor acumulación en el cerebro y en otros tejidos vía el efecto pasivo de acumulación y retención habilitada (EPR). También disminuye el reconocimiento de epitopos (secuencia específica a la que se unen los anticuerpos, receptores de las células B o de las células T).

Se han empleado otras moléculas hidrofílicas como el Brij 68, Brij78 y el Poloxamero F68, pero han demostrado ser ineficientes comparados con los polisorbatos.

---

---

También se ha demostrado que los surfactantes empleados influyen sobre la adsorción de moléculas endógenas (Kasongo *et al.*, 2011). Así como también en la regulación de los sistemas de flujo cerebrales (Solutol HS 15 inhibe glicoproteína-P; Sun *et al.*, 2004).

Solo los polisorbatos 20, 40, 60 y 80 tienen la capacidad de interactuar con las CECSC, a diferencia de los polisorbatos 81 y 85, los poloxámeros 184, 188, 388, 407 y la poloxamina 908.

Existen diversas explicaciones de este fenómeno entre los surfactantes, una de ellas se origina al considerar la adsorción de algunas proteínas plasmáticas en la superficie, entre ellas la apolipoproteína E; lipoproteína implicada en el transporte de lípidos al cerebro mediante el receptor de LDL. Los receptores LDL se expresan en las CECSC y también se expresan de manera considerable en células cancerosas; por lo que resulta muy útil el recubrimiento con polisorbatos en nanoacarreadores dirigidos a tumores cerebrales.

Se han formulado diversos fármacos en nanoacarreadores recubiertos con polisorbato, entre ellos se encuentran: la dalargina (Shamenkov *et al.*, 2006), didanosina (Kasongo *et al.*, 2011), loperamida y doxorubicina (Bédunau *et al.*, 2007).

Recientemente se han descrito la elaboración de liposomas que contienen un derivado de APO E conjugadas con dipalmitoil glicerol (Kaur *et al.*, 2008).

En general, las características superficiales del nanoacarreador indicarán las consecuencias inmediatas una vez que esta se encuentre en plasma sanguíneo (*v.gr.* superficies hidrófobas promueven la adsorción de macromoléculas endógenas y genera el efecto llamado "corona"; esta adsorción de macromoléculas regirá el nuevo patrón de cinética en las nanopartículas. Superficies con carga negativa promueven la activación del sistema del complemento. Cargas positivas superficiales promueven la interacción con las membranas y con el ADN. Todas éstas

---

---

características son de especial importancia para el diseño racional de nanoreservorios. Se debe considerar desde el tamaño, la composición, recubrimiento, ligandos de dirección, etc.

## 5.5 UNIÓN A LIGANDOS

El empleo de ligandos o elementos de dirección en la superficie de los nanoacarreadores que permita la unión específica a algún epítipo superficial, o a algún receptor en los sitios blanco, se vuelve especialmente útil cuando se conoce la regulación de receptores y marcadores celulares; como en el caso del cáncer. (Kaur *et al.*, 2008)

Los anticuerpos se han empleado como elementos de dirección específicos y como “caballos troyanos”, permitiendo el ingreso al parénquima cerebral.

### 5.5.1 Uniones Covalentes

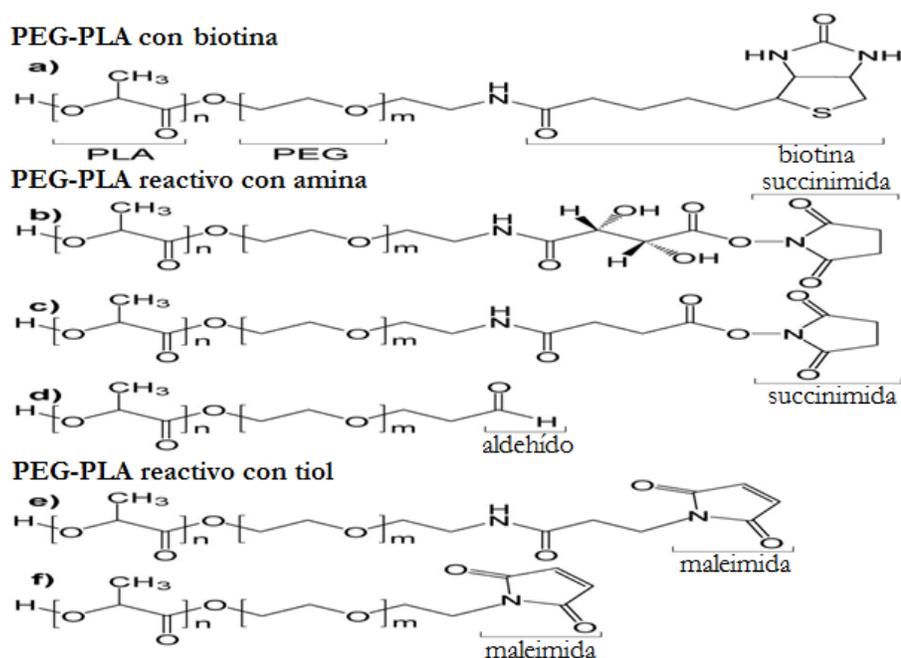
Para que un nanoacarreador logre atravesar la BHE debe contener ciertos elementos superficiales que incrementen el tiempo de circulación y también los niveles principio en un órgano deseado. Para esto se requiere la presencia de ligandos con alta afinidad a determinados receptores en los extremos de hasta el 2% de las moléculas de PEG<sub>2000</sub>. Se pueden fabricar nanoacarreadores que contengan varios elementos superficiales. Esto ha mostrado incrementar de manera sinérgica la concentración y permite tmb la incorporación de moléculas con propiedades ópticas.

Existen porciones de las cadenas de PEG que no son reactivas, como los copolímeros de metilPEG- PLA; el grupo metilo limita la unión de los ligandos a la cadena de PEG. También se emplea el 1,2-Diesterealoil fosfatidiletanolamina (DSPE) para unir los ligandos y su región hidrocarbonada se incorpa en el cuerpo de los liposomas mediante la técnica de post-inserción.

La unión covalente de ligandos proteínicos a nanopartículas recubiertas con PEG requiere la presencia de grupos químicos reactivos en los extremos de las cadenas de PEG. Recientemente se ha descrito la fabricación de varios copolímeros reactivos, que permiten la conjugación química de las proteínas, sin generar una desnaturalización de la misma (pérdida de la función y estructura biológica).

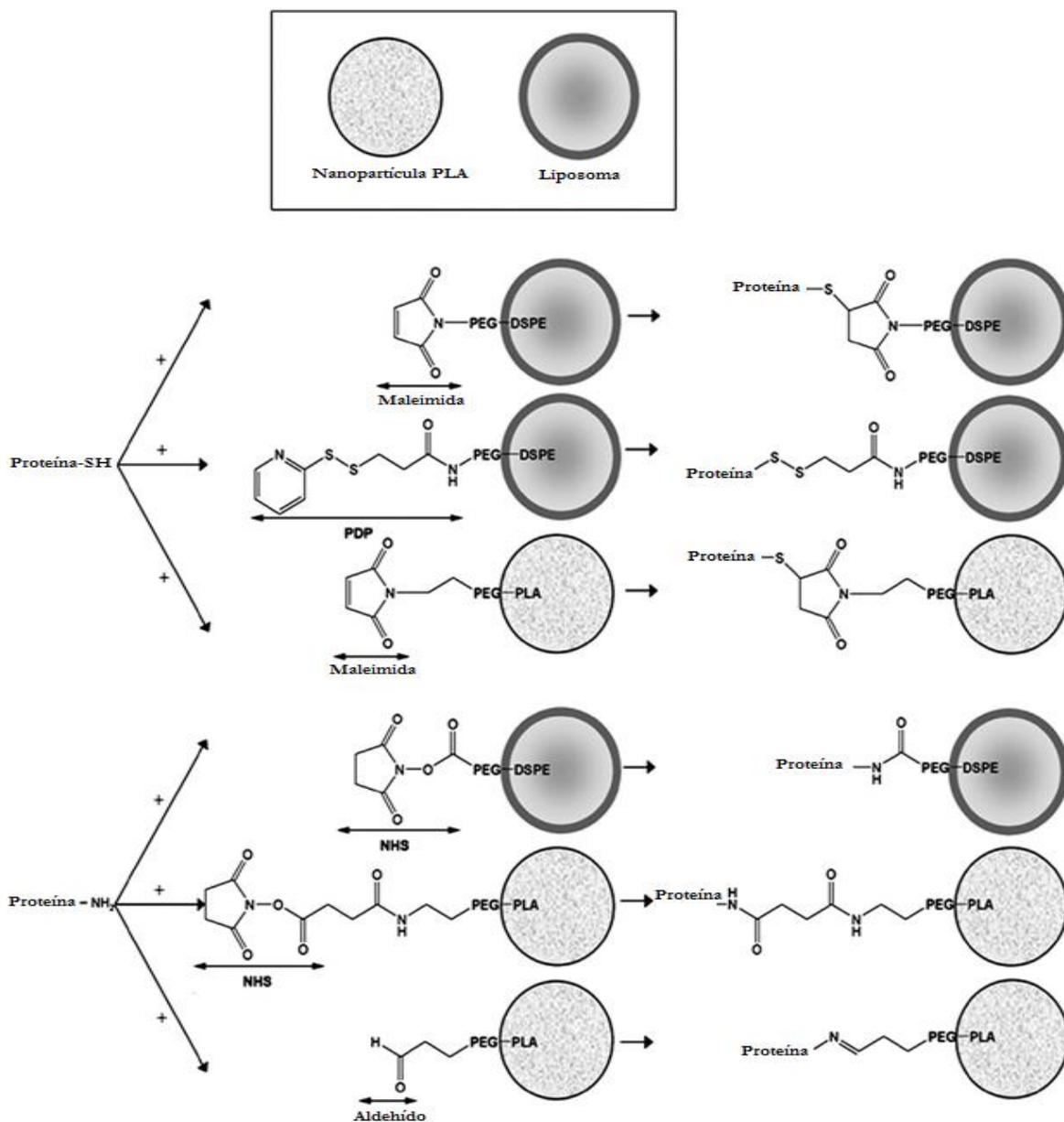
Se han desarrollado copolímeros funcionalizados para reaccionar con residuos de los aminoácidos; con grupos amino y con residuos tiol (Olivier J.C., 2005).

**Figura 50.** Algunos copolímeros empleados para la funcionalización de nanopartículas. Observamos la presencia de grupos reactivos en ambos extremos. (Olivier, 2005).



La síntesis de los nanoacarreadores funcionalizados comienza con la apertura del anillo, generalmente, de la estructura de PEG bifuncionalizada. En la **figura50** podemos observar distintos copolímeros destinados a reaccionar con avidina, grupos amino y tiol.

**Figura 51.** Unión covalente de nanoacarreadores con ligandos funcionales. (Béduneau et al., 2007)



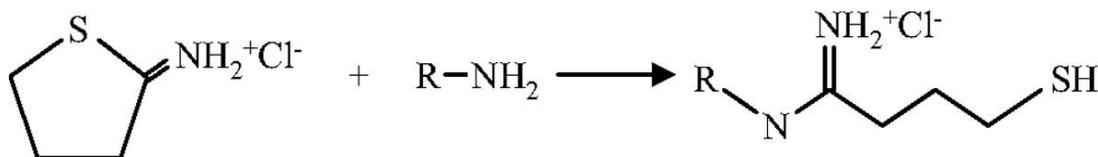
Las moléculas o copolímeros amino-reactivos necesitan la presencia de un grupo carbonilo (aldehído, ácido o éster) el cuál se comporta como electrófilo y el nitrógeno del grupo amino como nucleófilo, obteniéndose una amida perdiendo una molécula de agua (en este caso se requiere emplear un copolímero con carbonilo terminal. En el caso del grupo reactivo a tiol,

---

observamos que el grupo tiol (-SH) interacciona con el doble enlace del heterociclo con nitrógeno.

Las cadenas de PEG amino-reactivas se emplean para conjugar con residuos amínicos laterales de los aminoácidos lisina, arginina y glutamina. Mientras que el PEG tiol-reactivo se emplea para conjugar con proteínas que contengan cisteína. Debido al relativamente bajo contenido de cisteína se puede emplear el reactivo de Traut (2-iminotiolano) el cuál se emplea para incluir grupos tiol, como se muestra en la **figura 52** esta estrategia ha demostrado no interferir en el direccionamiento del nanoacarreador (Olivier J. C., 2005).

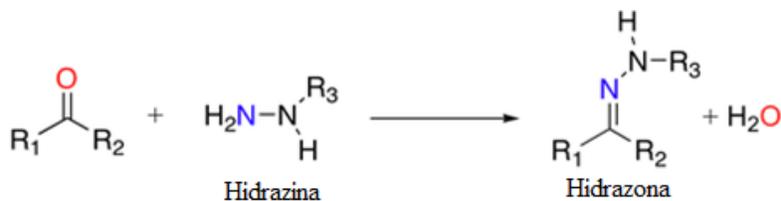
*Figura 52. Reactivo Traut e incorporación de grupos tioles tras la reacción con aminas primarias*



Los anticuerpos se pueden unir químicamente mediante la reacción de Schiff. Esta reacción explica la formación de iminas o de hidrazonas (depende si el nitrógeno se encuentra unido a grupos arilo, alquilo o amino). Comprende la reacción entre un grupo carbonilo no terminal y una amina primaria.

---

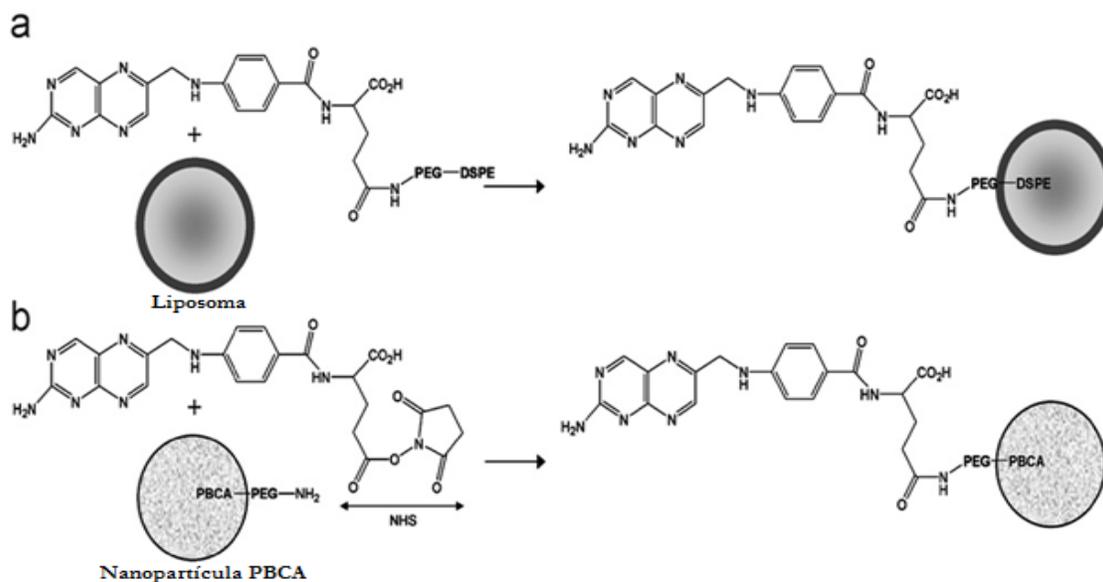
**Figura 53.** *Reacción de Schiff. En donde a partir de una amina primario y una cetona se obtiene una imina mediante deshidratación.*



Esta técnica precedida a la reducción de la amina (empleado NaBH<sub>3</sub>CN) se emplea para la conjugación de anticuerpos mediante la fracción Fc.

Se han desarrollado otras estrategias para conjugar biomoléculas como elementos de dirección a la superficie de los nanoacarreadores. Por ejemplo las nanopartículas de polialquilmianoacrilato-PEG se conjugaron covalentemente con ácido fólico haciendo reaccionar el ácido carboxílico terminal mediante una reacción de amidación.

**Figura 54.** Unión covalente de ácido fólico a liposomas y nanopartículas poliméricas. En a) la amidación de DSPE-PEG-NH<sub>2</sub> con el ácido fólico se añade a liposomas mediante la técnica de postinserción. Mientras que en b) observamos que el copolímero PBCA-PEG-NH<sub>2</sub> reacciona con el ácido carboxílico terminal de la molécula de ácido fólico. Una previa exposición del ácido fólico con N-hidroxisuccinimida incrementa la velocidad de la formación de la amida (Olivier, 2005).



### 5.5.2 Uniones No Covalentes

También existen técnicas para unir no covalentemente los ligandos de dirección a los nanoacarreadores. En una técnica se considera el empleo de la proteína A (proteína superficial de *Staphylococcus aureus*); dicha proteína tiene la capacidad de unirse a la fracción Fc de los anticuerpos tipo IgG. Sin embargo esta técnica solamente se puede emplear para unir anticuerpos como ligando.

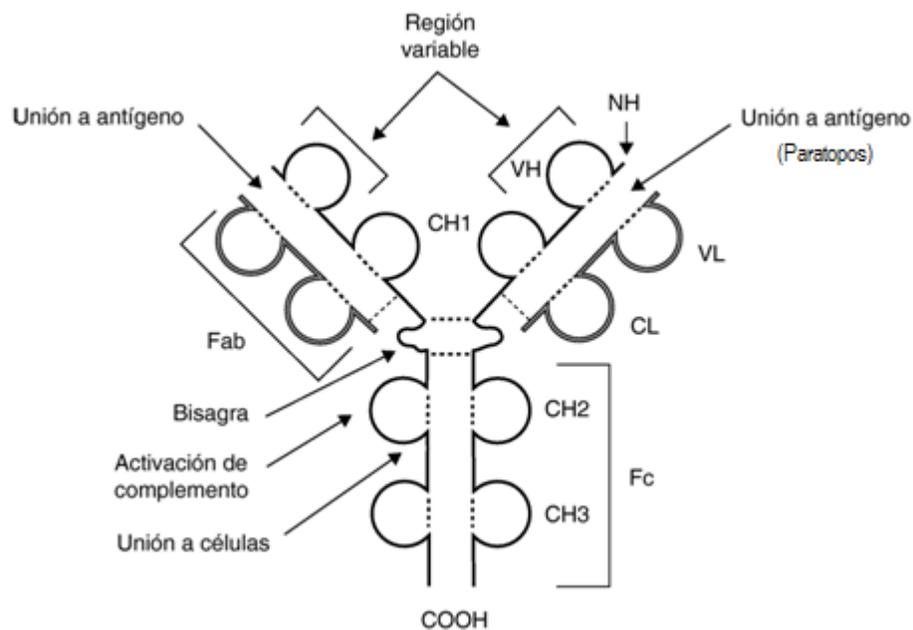
**Figura 55.** Esquema de un anticuerpo de clase IgG. Podemos observar la fracción constante y la fracción variable (Fc y Fab, respectivamente). Los grupos funcionales terminales; amino terminal en Fab y carboxilo terminal en Fc. También observamos la presencia de paratopos: sitios de unión a antígenos (secuencia de reconocimiento complementaria a los epitopos).

Recuperado

de:

[http://www.elsevier.es/ficheros/publicaciones/02134853/0000002600000005/v1\\_20130515110](http://www.elsevier.es/ficheros/publicaciones/02134853/0000002600000005/v1_20130515110)

[7/S0213485310002914/v1\\_201305151107/es/main.assets/gr1.jpeg](7/S0213485310002914/v1_201305151107/es/main.assets/gr1.jpeg)



La unión de la proteína A a la fracción constante de IgG representa un mecanismo de defensa de *Staphylococcus aureus*. Pero acoplando esta técnica en nanoacarreadores se convierte en una buena estrategia para dirigir específicamente a un tejido el acarreador.

Otra estrategia empleada consiste en el uso de avidina-biotina. La unión no covalente entre la avidina y biotina esta caracterizada por una alta afinidad ( $K_d = 10^{-15}M$ , constante de disociación, un valor bajo representa una alta afinidad y con tiempo medio de unión de 89 días). La avidina contiene cuatro sitios de unión y se puede emplear también su análogo sin

---

---

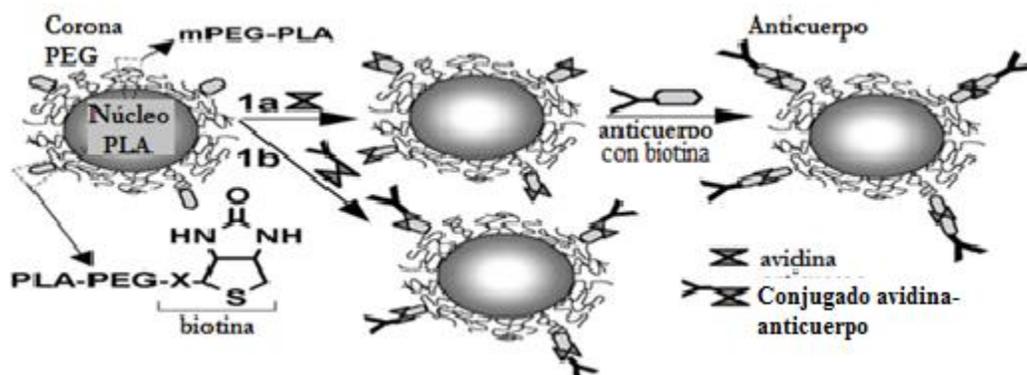
carga streptavidina, caracterizado por un mayor tiempo de circulación plasmática. La avidina es una proteína que tiene un punto isoeléctrico elevado de 10.5 y pudiese alterar los tiempos de circulación del nanoacarreador.

Se ha empleado este conocimiento sobre la avidina (macromolécula tetramérica de 66-69 kDa) y la biotina de dos maneras. La primera implica la inserción de la avidina o la streptavidina en la estructura. Para esto se requiere activar a la avidina y la streptavidina mediante el empleo del reactivo químico N-Maleimidobenzoil-N-hidroxisuccinimida y posteriormente se hace reaccionar con grupos sulfhidrilos previamente introducidos, empleando el reactivo de Traut (2-imidotiolano). Esto produce la formación de enlaces tioeter.

La segunda técnica comprende el uso de DSPE-PEG-biotina para ser introducidos en liposomas mediante técnica postinserción. También se han desarrollado nanopartículas poliméricas de quitosán y de PLA-PEG con biotina en su superficie (Béduneau *et al.* 2007). El acoplamiento de la proteína al nanoacarreador se realiza por fuerzas electrostáticas.

Parecen muy similares las dos estrategias para introducir anticuerpos mediante el empleo de avidina-biotina. Solamente habría que destacar que el conjugado anticuerpo biotina se realiza mediante el grupo carboxilo de la biotina. Mientras que al realizar un conjugado anticuerpo-avidina éste se realizará principalmente en una terminación amino como de arginina, lisina o glutamina, dado que esta proteína tiene un punto isoeléctrico muy elevado (10,5).

**Figura 56.** La unión no covalente entre la biotina y la avidina de alta afinidad se explota para funcionalizar nanoacarreadores. Podemos observar que la unión al ligando se produce por la afinidad de la biotina a la avidina y el ligando se puede anexar ya sea en una segunda biotina o en la avidina funcionalizada. (Béduneau et al., 2007)



Se incuban los nanoacarreadores con biotina junto con la avidina o streptavidina conjugada a los elementos de dirección. De esta manera se fabrican nanoacarreadores funcionalizados empleando la técnica de unión no covalente avidina-biotina.

## 5.6 MODIFICACIÓN DEL MEDIO

### 5.6.1 Influencia del Campo Magnético y del Ultrasonido

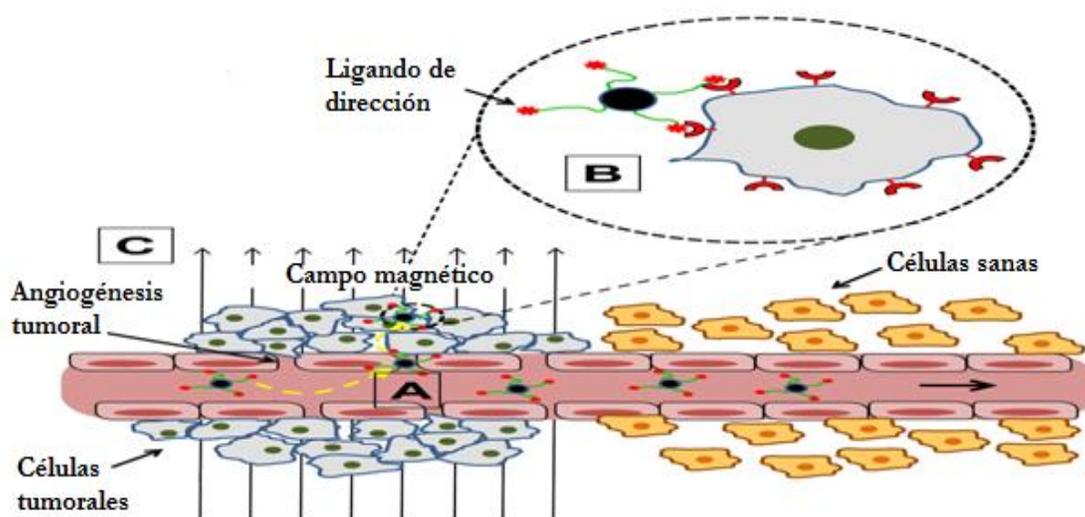
Recientemente se ha descrito la combinación de estas técnicas para incrementar la permeabilidad de la BHE de manera temporal, focalizada y reversible. Generando hipertermia focalizada y una disrupción temporal reversible de la BHE para facilitar el acceso de nanoacarreadores al SNC.

Cole, Yang y David (2011), demostraron la capacidad de las nanopartículas magnéticas de óxidos metálicos para ser dirigidas a determinado órgano del cuerpo, inclusive al cerebro, bajo la influencia de un campo magnético; pudiéndose controlar el flujo sanguíneo y la integridad de la barrera hematoencefálica.

A diferencia de otros nanoacarreadores, cuando se emplean nanopartículas magnéticas uno puede explotar su capacidad de responder a estímulos extracorporales de un campo magnético.

Las nanopartículas magnéticas son retenidas en los tumores cuando la fuerza magnética es suficiente para sobreponerse a las fuerzas de arrastre hidrodinámico generadas por el flujosanguíneo (Cole *et al.*, 2011).

**Figura 57.** Representación de los efectos de un campo magnético sobre la distribución de nanopartículas magnéticas. a) Efecto EPR (como se mencionó anteriormente la neovascularización tumoral carece de BHE y posee fenestraciones); si el tamaño de partículas es adecuado las MNP entran en contacto con las células tumorales y gracias a que carecen de sistema linfático no hay drenaje y se acumulan, b) vectorización molecular (la presencia de ligandos facilita la unión específica al tumor) y c) la vectorización magnética, la fuerza magnética producida por el gradiente magnético atrae MNP al sitio del tumor y ayuda a su subsecuente interacción (Omidi y Barar, 2012).

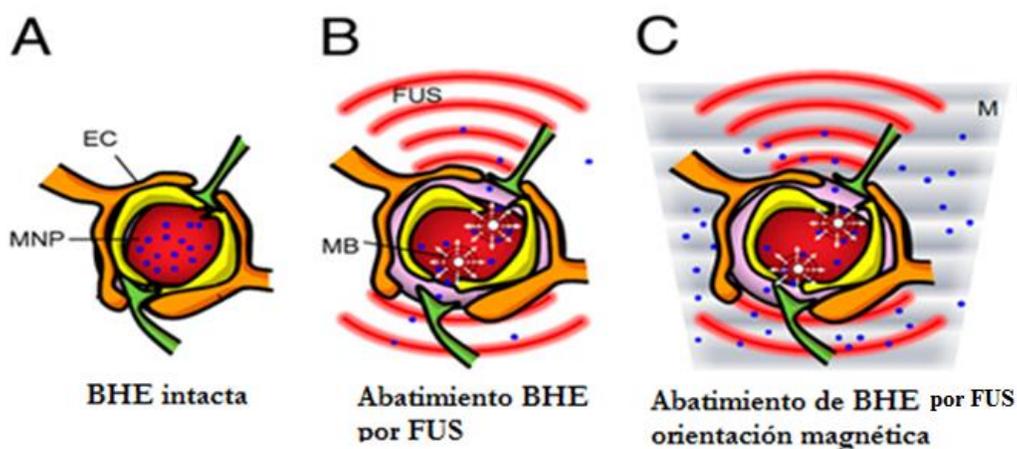


---

La vectorización asociada solamente a la aplicación de un campo magnético resulta en un incremento de apenas 1.8 veces comparado con la ausencia del campo magnético. (Chertok *et al.*, 2011)

Mientras que, cuando se emplean ambas técnicas consecutivamente (primero se abate la BHE empleando el ultrasonido focalizado (FUS)) y posteriormente se aplica la resonancia magnética para incrementar la permanencia de los acarreadores en la zona deseada. (Liu *et al.*, 2011).

**Figura 58.** Abatimiento de la BHE mediante el uso de FUS y un campo magnético.(Liu *et al.*, 2012)



Este estudio demuestra la capacidad de las nanopartículas magnéticas para emplearse como nanoacarreadores de fármacos dirigidos específicamente. El uso concomitante de la resonancia magnética dirigida y del ultrasonido focalizado inclusive permite la entrega de células madre a determinadas regiones del cerebro (Omidi y Barar, 2012).

De esta manera podemos obtener acarreadores multifuncionales dirigidos a cualquier región órgano o tejido del organismo.

---

---

La combinación de estas técnicas provee de herramientas muy prácticas para la entrega específica de sustancias, pero sobre todo, el empleo de MNP puede ser monitoreado mediante imágenes de resonancia magnética; lo que permite una evaluación *in vivo* en tiempo real de la distribución de los nanoacarreadores en el organismo. Y por añadidura entregar un fármaco en el sitio deseado. A este tipo de acarreadores multifuncionalizados con propiedades de diagnóstico y terapéuticos se les ha denominado *teranósticos*.

## **6 ANÁLISIS**

Como se ha podido denotar el establecimiento de un régimen terapéutico en el SNC es un asunto multifactorial, con condiciones específicas para cada individuo y en un ambiente constantemente cambiante, sobretodo en pacientes con alguna lesión o enfermedad. La permeabilidad y la integridad de la BHE también se alteran dependiendo si se trata de un evento agudo, crónico, degenerativo, inflamatorio, traumático, hemorrágico, etc. Esto de manera variable entre individuo y enfermedad y de manera progresiva. Lo que invariablemente se traducirá como una modificación de la absorción del medicamento, de sus efectos y sus posibles efectos secundarios.

Sin lugar a dudas el panorama de investigación para acceder al SNC es muy amplio y para nuestros fines consideraremos solamente técnicas no-invasivas, concretamente al empleo de nanopartículas. El uso de nanoacarreadores funcionalizados ha eliminado los conflictos que se consideraban antes limitantes en el empleo de diversas sustancias, como son: tamaño de partícula, carga, liposolubilidad, tiempo de vida media muy corto y un efecto de primer paso considerable. Esto se logra al liberar el principio activo en el sitio deseado y a una velocidad adecuada, con lo cual se incrementa la eficacia de los tratamientos: disminuyendo las dosificaciones y el número de las mismas por día, ya que el fármaco se encuentra

---

---

principalmente en su sitio de acción y en una concentración adecuada. Esto también conlleva una disminución resaltable de los efectos adversos.

La diversidad de NP existentes y sus aplicaciones, son cuantiosas; como su empleo en obtención de imágenes con alta resolución y en tiempo real, la producción de nanobiomateriales para la producción de tejidos artificiales, nanofibras con VEGF que promueven angiogénesis, nanocatalizadores que producen hidrogeno a partir de metanol (González, 2016), nanosensores que detectan en tiempo real fluctuaciones de glucosa y otros parámetros en sangre, etc.

De manera sorprendente las aplicaciones de la nanotecnología se encuentran en todos lados. Desde la industria alimentaria, cosmética, farmacéutica, etc. Las posibilidades de aplicaciones están limitadas por nuestro propio ingenio. Existiendo incluso paneles solares nanoestructurados que mejoran el rendimiento de la operación. Desgraciadamente la elevación en los costos relacionados la implementación de la nanotecnología en las diferentes áreas genera que este tipo de innovaciones se encuentren actualmente inasequibles para el grueso de la población.

En el área Farmacéutica esperamos ávidos la época en la cuál la administración de sustancias no se encuentre restringida a moléculas pequeñas, con una buena liposolubilidad y neutras.

El empleo de NP abre la pauta para la investigación en terapia génica. Esta herramienta terapéutica representaría, al fin, la cura de muchas enfermedades. Lo que representa un triunfo para la investigación clínica, para la salud en general y la economía de los pacientes

En cuánto a la migración a través de BHE las estrategias empleadas son muy diversas. Sin considerar la modificación de la molécula (esta manipulación química implica la formación de una nueva entidad química y nuevas propiedades farmacológicas y toxicológicas) y el

---

---

abatimiento de la BHE (al ser inespecífica altera la composición del LCR) por las consecuentes desventajas que tienen. La vía más cómoda para el paciente será siempre la vía oral y también será la vía por la que se logra un mejor control terapéutico personal.

En general, el empleo de NP ha ostensiblemente mejorado la absorción a nivel BHE (tanto en modelos *in vitro* como *in vivo*), también incrementa la permanencia y la acumulación de manera inespecífica o específica en el parénquima cerebral. Existen algunas observaciones muy valiosas al emplear NP como sistemas acarreadores de fármacos:

- Si el tamaño de partícula es menor a 200 nm se evitará una alta captación por las células del sistema monocítico fagocitario. Para mejorar el tiempo de circulación es necesario también una carga superficial neutra, cierta esfericidad y una deformabilidad adecuada (Bondi *et al*, 2012).
- Si el peso del nanoacarreador es menor a los 40kDa este se filtrará a través de los glomerulos renales.
- Existen algunos receptores que favorecen la endocitosis como el de IGF y otros que favorecen la transcitosis como el receptor de Transferrina y el de Insulina.
- Formulaciones con carga superficial positiva pueden ser adsorbidas en la superficie de las CECSC cerebrales y migrar por endocitosis mediada por adsorción (AME); también pueden formar complejos con el ADN, fundamental en terapias génicas (los dendrímeros de PAMAM han demostrado ser muy eficaces para la transferencia de genes, cuando tienen una carga superficial positiva adecuada).
- Cuando se emplean NP menores a 200 nm se favorece la endocitosis vía clatrina, mientras que a partículas mayores se les favorece la vía caveolar (la vía caveolar es principalmente de transcitosis y son más estables). Pero si a las partículas se les coloca

---

---

carga superficial positiva se favorece la endocitosis por adsorción; Aunque, si la NP contiene algún elemento para vectorizar, entonces se favorece el transporte mediado por el receptor.

- Se ha aprovechado la expresión de ciertos receptores en las CECSC cerebrales para acceder al SNC, como son: el receptor de Transferrina (este favorece transcitosis), el receptor de Lactoferrina (este se encuentra menos saturado en condiciones fisiológicas y ha demostrado ser un camino de experimentación más viable, Huang *et al.*), el receptor de Insulina, el receptor de LDL, LRP también se han empleado ligando virales (péptido TAT, gH625), no-virales (pegelín, penetratín, synB, COG13, etc.) endógenos (manosa, glucosa, aminoácidos) y anticuerpos monoclonales.

Cuando decimos que las propiedades de un material se modifican en función del tamaño de partícula, tenemos que entender que esto no solamente tiene consecuencias benéficas, sino también existe la posibilidad de generar daños biológicos y ambientales no intencionados (Schaefer, 2010).

En el área clínica se ha observado la presencia de efectos citotóxicos y estrés oxidativo en cultivos de astrocitos con nanopartículas de Ag. También se ha observado que NP de Ti, Si y Au ingresan al SNC por mecanismos desconocidos y se acumulan en hipotálamo, tálamo, hipocampo y corteza cerebral (Masserini, 2013). Las NP de PBCA han demostrado abatir la BHE, y generar metabolitos tóxicos mediante esterasas presentes en el cerebro. Se ha calculado que la dosis letal 50 en ratones para PBCA es de 230 mg/Kg. Otra sustancia que debemos observar sus usos y toxicología es el Polisorbato 80.

También debemos recordar que distintas NP (Cu, Ag, Al, MnO<sub>2</sub>, SiO<sub>2</sub>) han mostrado alterar la permeabilidad de la BHE y alterar el balance de aminoácidos en regiones de la corteza, el

---

---

hipocampo y en cerebelo aumentando Glutamato (2-3 veces) y Aspartato (5-7 veces) y disminuyendo GABA (2-3 veces) y Glicina (4-6) veces favoreciendo la formación de efectos excitotóxicos. Asimismo, estas NP mostraron exacerbar los daños producidos por estrés térmico y por lesión medular. También es importante mencionar que los daños de las nanopartículas fueron mayores en ratas diabéticas, hipertensas y estresadas. Por lo tanto efectos desconocidos de nanoneurotoxicidad podrían enmascarar o nulificar los efectos benéficos de una terapia. Tal es la importancia de garantizar una inocuidad de los excipientes y polímeros empleados. (Sharma *et al.*2013).

Existe otra posibilidad para el empleo de nanopartículas con la intención de establecer terapias dirigidas al SNC. Con sustancias endógenas como: factores tróficos, factores de crecimiento, factores neurotróficos, vitaminas, hormonas, neurotransmisores, lectinas o con fitomedicamentos y extractos de herbolaria ostensiblemente eficaces y seguros. Existen muchos estudios acerca de potencial empleo de estas sustancias en distintas enfermedades, como: el empleo de baicalina para prevenir efectos oxidativos consecuentes a la isquemia y traumatismo craneoencefálico, empleo de curcumina y ácido ferúlico como poderosos anti-inflamatorios y anti-oxidantes, etc.

Otro aspecto revolucionario de esta tecnología se explica considerando que al disminuir el tamaño de la partícula incrementa el área superficial y por lo tanto el área activa. Esto es de trascendental importancia en temas de biorremediación sobretodo hoy en día que las prácticas consumistas deterioran tanto y tan rápido los ecosistemas de nuestro planeta. Con este enfoque, y aunque carece de sentido para nuestro tema, quisiera mencionar los esfuerzos intelectuales y físicos de Camacho (2010) en la producción de un polímero de características plásticas biodegradable hecho a partir de maíz y de Morikawa (2014) al emplear nanoburbujas para descontaminar un humedal. Pues si los científicos no reconocen su compromiso

---

---

inalienable con el bienestar y el progreso de la humanidad, el desarrollo tecnológico tendrá un costo demasiado caro.

## **7 CONCLUSIÓN**

Se recopiló satisfactoriamente información relacionada con el empleo de nanoacarreadores destinados a acceder al SNC con fuentes desde 2002 hasta la fecha actual. Proporcionando la clasificación y características de cada tipo de nanopartícula empleada para ingresar al SNC.

El desarrollo de la nanotecnología tiene aplicaciones en áreas muy diversas, pero en particular, en el área farmacéutica se modifica la concepción de medicación oral por la posibilidad de administrar cualquier tipo de nanoacarreador con propiedades múltiples; y de una manera no-invasiva poder acceder al cerebro y hasta al ADN de una célula mutante.

Se logró evidenciar las diferencias entre una formulación convencional y una formulación con nanopartículas, enfatizando en cómo se alteran los procesos farmacocinéticos normales para una determinada sustancia. Removiendo de esta manera las limitaciones que se tenían en cuestión de solubilidad, sensibilidad al pH gástrico, absorción limitada, efecto de primer paso considerable, etc. Esto, además, confiere la capacidad de vectorización.

Existen diferentes maneras para vectorizar el nanoacarreador. El empleo de los receptores expresados en las CECSC cerebrales ha resultado muy prometedor y una vez más la limitación se convierte en nuestro conocimiento del cuerpo humano.

Al observar la diversidad de materiales, características de superficie y moléculas de dirección que se pueden fabricar como NP es evidente que la fabricación de los nanoacarreadores estará en función de las características de cada patología específica. Entonces, es correcto pensar que

---

---

para el tratamiento de VIH se requiera una alta captación de las NP por parte del sistema monocítico fagocitario y esto se favorece al tener un tamaño de partícula mayor a 200nm.

Otro ejemplo lo confiere la infección de tuberculosis en donde el patógeno es internalizado vía el receptor de manosa presente en células fagocitarias, una solución se ha encontrado al recubrir las NP con lipoarabinomano y esta tiene afinidad por el receptor de manosa. De esta manera se busca que la NP y el patógeno cohabiten las células infectadas y sea más eficiente el tratamiento.

Es evidente el papel crucial que tiene el ingenio de los investigadores para poder aprovechar los conocimientos de la anatomofisiología del SNC en busca de características explotables para el uso de nanoacarreadores eficientes y seguros.

Debido al atraso temporal y al incremento en costos que conllevaría el patentar distintos medicamentos con formulaciones de NP se propone el producir NP con compuestos endógenos o principios herbolarios que no son patentables. Esto con la finalidad de que las ventajas del empleo de NP puedan llegar a la mayoría de la población como un beneficio y no como una exposición no controlada a aditivos en alimentos de consecuencias aún desconocidas.



---

---

## 7. REFERENCIAS

- Aoki, H., *et al.* (2004). Therapeutic efficacy of targeting chemotherapy using local hyperthermia and thermosensitive liposome: evaluation of drug distribution in a rat glioma model. *International Journal of Hyperthermia*.20 (6): 595- 605.
- Balbuena P., Li W y Ehrich M. (2011). Assessments of tight junction proteins occludin, claudin 5 and scaffold proteins ZO1 and ZO2 in endothelial cells of the rat blood-brain barrier: cellular responses to neurotoxicants malathion and lead acetate. *Neurotoxicology*, 32(1), 58-67.
- Barrett, K. E., *et al.* (Eds.). (2012). *Ganong's Review of Medical Physiology*.McGraw Hill Professional. Recuperado de: <https://emergencypedia.files.wordpress.com/2013/04/ganong-pdf.pdf>
- Béduneau, A., Saulnier P., Benoit J.P. (2007). Active targeting of brain tumors using nanocarriers. *Biomaterials*, (28): 4947- 4967.
- Béduneau, A.*et al.* (2008). Brain targeting using novel lipid nanovectors. *Journal of Controlled Release*, (126): 44- 49.
- Bondi, M. L. *et al.* (2012). Lipid nanoparticles for Drug targeting to the Brain. *Methods in Enzimology*, (508): 229-252.
- Bondi, M. L. *et al.* (2007). Novel cationic solid-lipid nanoparticles as non-viral vectors for gene delivery. *Journal of Drug Targeting*. 15 (4): 295- 301-
- Brailowsky, S. *et al.*(2da. Edición). (2004). *El Cerebro Averiado. Plasticidad cerebral y recuperación funcional*. México, D.F: Fondo de Cultura Económica.

- 
- Brewer, M. *et al.* (2007). Futuros abordajes de la nanomedicina en la ciencia clínica. *Clínicas Médicas de Norteamérica*, (91): 963- 1015.
  - Brunton, L. L., Chabner, A. B., Knollman B. C. (Eds.). (2007)*Goodman & Gilman's thePharmacological Basis of Therapeutics*. McGraw HillVersión on-line. Recuperado de:  
<http://www.accessmedicine.com.pbidi.unam.mx:8080/resourceTOC.aspx?resourceID=651>
  - Bodor, N. y Buchwald, P. (2003). Brain-Targeted Drug Delivery. *American Journal of Drug Delivery*. 1 (1): 13-26.
  - Camacho Correa, C. B. (2010). *Nanocompuestos biodegradables basados en almidón de maíz termoplástico y arcillas nanoestructuradas*. Tesis de Maestría en Ciencias Químicas. Universidad Nacional Autónoma de México.
  - Cannon, R. E. (2012). Targeting blood-brain barrier sphingolipid signaling reduces basal P-glycoprotein activity and improves drug delivery to the brain. *National Cancer Institute*.
  - Chakraborty C. *et al.* (2009). Future prospects of nanoparticles on brain targeted drug delivery. *Journal of Neurooncology*. 93: 285- 286. DOI: 10.1007/s11060-008-9759-2.
  - Chertok, B. *et al.* (2011). Brain tumor targeting of magnetic nanoparticles for potential drug delivery: effect of administration route and magnetic field topography. *Journal of Controlled Release*, (155): 393-399.

- 
- Cole, A. J. *et al.* (2011, Junio). Magnetic Brain tumor targeting and biodistribution of long-circulating PEG- modified, cross linked starch-coated iron oxide nanoparticles. *Biomaterials*, (32): 6291- 6301.
  - Cole, A.J., Yang, V., David, A.E. (2011, Julio). Cancer Theranostics: The Rise of Targeted Magnetic Nanoparticles. *Trends Biotechnology*. 29 (7): 323- 332. doi:10.1016/j.tibtech.2011.03.001
  - Coville, N. *et al.* (2011). A review of shaped carbon nanomaterials. *S Afr J Sei.*107.DOI: 10.4102/sajs.v107i3/4.418
  - De la Cruz Medina, M. (2010). Preparación, Caracterización y uso de nanopartículas farmacéuticas (Investigación Bibliográfica). Tesis (Químico Farmacéutico Biólogo). Universidad Nacional Autónoma de México.
  - Desino, K. (2008). *Improving Blood-Brain barrier permeation of small molecules exhibiting chemotherapeutic and neuroprotective effects*. Tesis (Doctorado). Kansas, USA. University of Kansas, Departamento de Química Farmacéutica.
  - D'Addio, S. *et al.* (2013). Optimization of cell receptor-specific targeting through multivalent surface decoration of polymeric nanocarriers. *Journal of Controlled Release*, (168): 41-49.
  - Fujita, M. (2007). Brain Tumor tandem targeting using a combination of monoclonal antibodies attached to biopoly ( $\beta$ -L- malic acid). *Journal of Controlled Release*, (122): 356- 363.
  - Garza, M., Hinojosa, M., González, V. (2009). Desarrollo de nanocompuestos superparamagnéticos de matriz polimérica. *Ciencia UANL*. 7(2): 143- 150.

- 
- Gao, H. *et al.* (2013). Targeted Delivery of Nano-Therapeutics for Major Disorders of the Central Nervous System. *Pharm Res.* 30:2485–2498. DOI: 10.1007/s11095-013-1122-4.
  - González, A. M., *et al.* (2011). Targeting choroid plexus epithelia and ventricular ependyma for drug delivery to the central nervous system. *Neuroscience.* 12(4). Recuperado de: [www.biomedcentral.com/1471-2202/12/4](http://www.biomedcentral.com/1471-2202/12/4).
  - González Ariaza, D. D. (2016). *Producción de H<sub>2</sub> por oxidación parcial de CH<sub>3</sub>OH en nanocatalizadores de Cu soportado en CeO<sub>2</sub> con diferente morfología*. Tesis de Maestría en ciencia e ingeniería de materiales. Instituto de Física. UNAM
  - González, T. y Muñoz, A. Dendrímeros y sus aplicaciones biomédicas. *Laboratorio de InmunoBiología Molecular*, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid. Recuperado de: <http://www.analesranf.com/index.php/mono/article/viewFile/992/1026>
  - Gregoriadis, G. (Ed.) (2007). *Liposome Technology*. Informa Health Care.
  - Haque, S. *et al.* (2011). Venlafaxine loaded chitosan NPs for brain targeting: Pharmacokinetic and pharmacodynamic evaluation. *Carbohydrate Polymers.* (89): 72-79.
  - Hernández, M. E. *et al.* (2007). Vías de neuroinmunomodulación. Primera parte. *Salud Mental.* 30 (6): 13- 19.
  - Hernández, M. E. *et al.* (2008). Vías de neuroinmunomodulación. Segunda parte. *Salud Mental.* 31 (1): 29- 36.

- 
- 
- Hicks, D. *et al.* (2011). Membrane targeting, shedding and protein interactions of brain acetylcholinesterase. *Journal of Neurochemistry*, (116): 742- 746.
  - Huang, F. Y. *et al.* (2013). *In Vitro* and *in Vivo* Evaluation of Lactoferrin-Conjugated Liposomes as a Novel Carrier to Improve the Brain Delivery. *International Journal of Molecular Sciences*. 14: 2862- 2874.
  - Huang, R. *et al.* (2008). The use of lactoferrin as a ligand for targeting the polyamidoamine- based gene delivery system to the brain. *Biomaterials*, (29): 238-246.
  - Jansch, M. *et al.* (2011). Evaluation of the *in vitro* differential protein adsorption patterns of didanoside-loaded nanostructured lipid carries (NLCs) for potential targeting to the brain. *Journal of Liposome Research*, 21(3): 245- 254.
  - Jiang, W. *et al.* (2012). Conjugation of functionalized SPIONs with transferrin for targeting and imaging of brain glial tumors in rat model. *National Institute of Health*, 7(5): 1-7.
  - Juilleratt- J. L. (2008). The targeted delivery of cancer drugs across the blood brain barrier: chemical modifications of drugs or drug-nanoparticles? *Drug Discovery Today*, 13 (23): 1099- 1106.
  - Kasongo, K. W. *et al.* (2011). Evaluation of the *in vitro* differential protein adsorption patterns of didanosine-loaded nanostructured lipid carriers (NLCs) for potential targeting to the brain. *Journal of Liposome Research*. 21(3): 245- 254.
  - Kaur, I. P. *et al.* (2008). Potential of solid lipid nanoparticles in brain targeting. *Journal of Controlled Release*, (127): 97-109.

- 
- 
- Kim, J. H., *et al.* (2006). Blood-neural Barrier: intercellular communication at Glial-Vascular interface. *Journal of biochemistry and molecular biology*. 39 (4): 339- 345.
  - Kim, W. S., Weickert, C. y Garner, B. (2008). Role of ATP-binding cassette transporters in lipid transport and neurological disease. *Journal of Neurochemistry*, (104): 1145-1166.doi: 10.1111/j.1471-4159.2007.05099.x
  - Li, Y. *et al.* (2012). A dual targeting nanocarrier based on poly (amidoamine) dendrimers conjugated with transferrin and tamoxifen for treating brain gliomas. *Biomaterials*, (33): 3899-3908.
  - Liu, Yang *et al.* (2009). Brain-Targeting gene delivery and cellular internalization mechanisms for modified rabies virus glycoprotein RVG29 nanoparticles. *Biomaterials*, (30): 4195- 4202.
  - Liu, H. *et al.* (2010). Magnetic resonance monitoring of focused ultrasound/magnetic nanoparticle targeting delivery of therapeutic agents to the brain. *PNAS*.107 (34): 15205-15210.Recuperado de [http:// www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1003388107](http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1003388107)
  - Loch-Neckel, G. y Koepp J. (2010). La Barrera hematoencefálica y la administración de fármacos al sistema nervioso central. *Revista de Neurología*, 51(3): 165-174.
  - Lu, Y. *et al.* Bioavailability and Brain- Targeting of Geniposide in gardenia-Borneol compound by different administration routes in mice. *International Journal of Molecular Sciences*, (13): 14127- 14135.
  - Lu, W., Zhang, Y., Tan, Y. Z., Hu, K. L., Jiang, X. G., Fu, S. K. (2005). Cationic albumin-conjugated pegylated nanoparticles as novel drug carrier for brain delivery. *Journal of Controlled Release*; 107 (3): 428– 48.

- 
- Luther, E. M. *et al.* (2011). Accumulation of silver nanoparticles by cultured primary brain astrocytes. *Nanotechnology*. 22: 11pp.
  - Martínez P. A. (2010). Sistemas Nanoparticulados de Aplicación Farmacéutica (Revisión Bibliográfica). Tesis (Químico Farmacéutico Biólogo). Edo. de México, México. Universidad Nacional Autónoma de México.
  - Masserinni, M. (2013) Nanoparticles for Brain Drug Delivery. *ISRN Biochemistry*.. Recuperado de <http://dx.doi.org/10.1155/2013/238428>
  - Medtronic. (2013). *Página electrónica de la compañía Medtronic®*. Recuperado de: <http://www.medtronic.com/about-us/businesses/surgical-technologies-ent-neurosurgery/index.html>
  - Meng, Q. *et al.* (2010). Myristic acid-conjugated polyethylenimine for brain- targeting delivery: *in vivo* and *ex vivo* imaging evaluation. *Journal of Drug targeting*. 18 (6): 438–446.
  - Misra, A., Ganesh S., Shahiwala, A. (2003). Drug delivery to the central nervous system: a review. *J Pharm Pharmaceut Sci*. 6(2):252-273.
  - Morikawa, Marino. (2014). Tratamiento y Transferencia Tecnológica para la Recuperación del Agua y Conservación del Medio Ambiente en el Humedal "El Cascajo" en la República del Perú. Recuperado de: [http://www2.congreso.gob.pe/sicr/comisiones/2012/com2012ciencia.nsf/0/0e4a37d3270f8de105257acd006e78c3/\\$FILE/Resumen\\_proyecto.pdf](http://www2.congreso.gob.pe/sicr/comisiones/2012/com2012ciencia.nsf/0/0e4a37d3270f8de105257acd006e78c3/$FILE/Resumen_proyecto.pdf)
  - Nag, S. (Ed.). (2011). The Blood-Brain and Other Neural Barriers: Reviews and Protocols. *Methods in Molecular Biology*. DOI:10.1007/978-1-60761-938-3\_1.

- 
- Nava-Ruíz, C. y Méndez-Armenta, M. (2011). Efectos neurotóxicos de metales pesados (cadmio, plomo, arsénico y talio). *Archivo de Neurociencia INNN*.16 (3): 140- 147.
  - Nelson, D. L., Cox, M. M. (Eds.). (2005). *Principios de Bioquímica Lehninger* (4 ed.)Recuperado de: <https://es.scribd.com/doc/165619338/Lehninger-Principios-de-Bioquimica-Cuarta-Edicion-David-L-Nelson-Michael-M-Cox>
  - Olivier, J. C. (2005). Drug Transport to Brain with Targeted Nanoparticles. *The Journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics*. (2): 108- 119.
  - Omid, Y. y Barar, J. (2012). Impacts of Blood-Brain Barrier in Drug Delivery and targeting of Brain Tumors. *Bioimpacts*, 2(1): 5-22.
  - Ortega García, J. A. *et al.* (2005). Neurotóxicos medioambientales (I). Pesticidas: efectos adversos en el sistema nervioso fetal y posnatal. *Acta Pediátrica España*.63: 140- 149.
  - Palani, J. N. M.*et al.*(2010). Enhanced brain drug delivery, targeting and assessment of potential Central Nervous System therapeutics across the Blood-Brain Barrier. *Journal of Pharmacy Research*. 3(4),737-741
  - Panchaxari, D. M. *et al.* (2012, Junio). RES and braintargeting stavudine/ loaded solid lipid nanoparticles for AIDS therapy. *Asian Journal of Pharmaceutics*, 116- 124.
  - Pardridge, W. (2010). Biopharmaceutical drug targeting to the brain. *Journal of Drug Targeting*, 18(3): 156-167.
  - Pascual-Garvi, J.M., González-Llanos, F., Prieto-Arribas, R., Cerdán, S., Roda, J.M.(2004). La Barrera Hematoencefálica: desarrollo de una estructura que permite la

---

heterogeneidad funcional del sistema nervioso central. *Revista de Neurología*, 38(6): 565- 581.

- Patel, S. *et al.* (2011). Brain targeting of risperidone- loaded nanoparticles by intranasal route. *Journal of Drug targeting*, 19(6): 468- 474.
- Patel, M. M., *et al.* (2009). Getting into the Brain. *CNS Drugs*. 23 (1): 35- 58.
- Qin Y.*et al.* (2010). *In vitro* and *in vivo* investigation of glucose-mediated brain-targeting liposomes. *Journal of Drug Targeting*. 18(7): 536- 549
- Roney C. *et al.* (2005). Targeted nanoparticles for drug delivery through the blood–brain barrier for Alzheimer’s disease. *Journal of Controlled Release*. 108: 193-214.
- Rovengo, M., Soto, P.A., Sáez, J.C., Bernhardt, R. (2012). Mecanismos biológicos involucrados en la propagación del daño en el traumatismo encéfalo craneano.*Medicina Intensiva*, 36(1): 37-44.
- Schaefer, H. E. (2010). Nanomedicine. En *Nanoscience*. Recuperado de DOI: 10.1007/978-3-642-10559-3\_12.
- Shamenkov, D.A. *et al.*(2006). Effects of Apolipoproteins on Dalargin transport across the blood-brain barrier. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 142(6): 703-707.
- Sharma, H. S. *et al.* (2013). New perspectives of nanoneuroprotection, nanoneuropharmacology and nanoneurotoxicity: modulatory role of amino acid neurotransmitters, stress, trauma, and co-morbidity factors in nanomedicine. *Amino Acids*. 45: 1055- 1071.

- 
- 
- Shen, J. *et al.* (2011). Poly(ethylene glycol)-block-poly (D,L- lactide acid) micelles anchored with angiopep-2 for brain-targeting delivery. *Journal of Drug Targeting*, 19(3): 197- 203.
  - Silva, G. (2006). Nanotechnology approaches for drug and small molecule delivery across the blood-brain barrier. *Surgical Neurology*. (67): 113-116.
  - Sun, W. *et al.* (2004). Specific role of Polysorbate 80 coating on the targeting of nanoparticles to the brain. *Biomaterials*, (25): 3065- 3071.
  - Thöle, M. *et al.* (2002). Cultured Porcine Brain Microvessel Endothelial Cells and Intact Brain Capillaries. *Journal of Drug Targeting*, 10(4): 337-344.
  - Tortora G. J. y Derrickson, B. (2006). *Principios de Anatomía y Fisiología*. España. Editorial Médica Panamericana.
  - Tsai, M. J. *et al.*(2012). Baicalein loaded in tocol nanostructured lipid carriers (Tocol NLCs) for enhanced stability and brain targeting. *International Journal of Pharmaceutics*, (423): 461- 470.
  - Uster, P. S. *et al.*(1996). Insertion of poly(ethylene glycol) derivatized phospholipid into pre-formed liposomes results in prolonged in vivo circulation time. *Federation of European Biochemical Societies*.386: 243-246.
  - Veiseh, O. *et al.* (2009, Julio). Specific Targeting of Brain Tumors with an Optical/Magnetic Resonance Imaging Nanoprobe across the Blood-Brain Barrier. *Cancer Research*. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-09-1157.

- 
- Wilson, B. (2009). Brain targeting PBCA nanoparticles and the Blood-Brain Barrier. *Nanomedicine*. 4 (5): 499- 502.
  - Ying, X.*et al.* (2010). Dual-targeting Daunorubicin liposomes improve the therapeutic efficacy of brain glioma in animals. *Journal of Controlled Release*, (141): 183, 192.
  - Zhang, Y., Zhu, C., Pardridge, W.M. (2002). Antisense gene therapy of brain cancer with an artificial virus gene delivery system. *Mol Ther*. 6 (1): 67– 72.