

EL IMPACTO DE LA NANOTECNOLOGÍA EN EL DESARROLLO DE NUEVOS MEDICAMENTOS

María José Alonso

1. Introducción

En este documento pretendo expresar mi visión del ámbito de la nanotecnología farmacéutica, en el que empecé a trabajar en el año 1986, y de su aplicación en el desarrollo de nuevos medicamentos.

Cuando pensamos en un tratamiento farmacológico, con frecuencia, nos viene a la mente una molécula activa, que es capaz de llegar al lugar donde ha de actuar produciendo un beneficio terapéutico, y que se elimina del organismo sin dejar huella. Sin embargo, sabemos que esta situación ideal dista de ser frecuente y que, en muchos casos, dicho tratamiento no resulta tan eficaz como sería deseable y, también, que puede llegar a ocasionar importantes efectos adversos. Las preguntas obvias son, por tanto, ¿en dónde reside la eficacia de un tratamiento? ¿Por qué existen numerosas enfermedades que aún no se pueden tratar o se tratan de un modo deficiente, aliviando los síntomas, pero no curando la enfermedad? ¿Por qué existen enfermedades que aún no podemos curar? Sin duda la respuesta a estas preguntas está en gran medida en la biología. Lo cierto es que no conocemos suficientemente la biología asociada a numerosas patologías. Como consecuencia de ello, no conocemos bien las dianas sobre las que hipotéticamente se podría actuar. Pero también existe la dificultad asociada al diseño de nuevos fármacos capaces de ejercer una función actuando a nivel de las dianas ya conocidas. En definitiva, los avances en el ámbito de la biología y del descubrimiento y síntesis de fármacos son críticos a la hora de progresar en el tratamiento de las enfermedades. Sin embargo, existen claras posibilidades de mejorar los tratamientos en aquellos casos en los que ya conocemos las dianas y disponemos de las moléculas activas, pero que son de limitada eficacia terapéutica. ¿A qué se debe esta situación anómala? Pues bien, se debe al hecho de que el fármaco no dispone *per se* de la “inteligencia” necesaria para acceder a su diana terapéutica y se distribuye por todo el organismo sin alcanzar su objetivo. Veamos a continuación el detalle de esta intrincada trayectoria del fármaco.

2. Perspectiva histórica

En la actualidad tenemos la suerte de conocer, aunque todavía de modo superficial, cuál es la trayectoria que sufre un fármaco desde el momento en que se administra a un ser vivo hasta el momento en que se elimina, y cuáles son las barreras biológicas a las que se enfrenta. Este ámbito de conocimiento es lo que se denomina en la actualidad “Biofarmacia y Farmacocinética”. Curiosamente, esta terminología y su ámbito de actuación no surgió hasta finales de los años 50 (Farmacocinética, entendida como el estudio cuantitativo del tránsito de un fármaco en el organismo) y comienzo de los 60 (Biofarmacia, entendida como el estudio de los factores en la biodisponibilidad de un fármaco). Es decir que, hasta ese momento, la toma de decisión sobre la administración de un fármaco y su posología se realizaba de un modo empírico. Dicho de otro modo, si un fármaco no daba lugar al efecto esperado (muchas veces condicionado a la percepción del paciente), simplemente se aumentaba la dosis. Si dicha dosis daba lugar a efectos adversos notables o no producía el efecto terapéutico esperado, se concluía con la interrupción del tratamiento. Sin embargo, gracias a la Biofarmacia y a la Farmacocinética se pudo obtener información sobre los factores biológicos, y también los relacionados con la formulación del fármaco, que podían influir en su acceso a la diana farmacológica y su consiguiente efecto terapéutico.

El conocimiento relativo al tránsito de un fármaco por el organismo tuvo una gran trascendencia en la tecnología farmacéutica. Así, en los años 60, varios investigadores célebres propusieron la idea de controlar el acceso de fármacos al organismo gracias al diseño de sistemas de liberación de fármacos. El origen de esta idea se vincula en gran medida a dos médicos ilustres, el Dr. Judah Hoffman y el Dr. Alejandro Zaffaroni. El primero de ellos propuso la utilización de biomateriales, que actuaban a modo de bomba, liberación el fármaco en sangre, de forma prolongada, del mismo modo en que se produce en la inyección por perfusión continua. Por su lado, el Dr. Zaffaroni, endocrinólogo y bioquímico, se centró en la idea de un sistema de liberación que actuase como una glándula endocrina. Fruto de esa línea de pensamiento fue la creación de la empresa *Alza Corporation*, en el año 1967, que fue la primera empresa orientada al diseño de sistemas de liberación controlada de fármacos. Los resultados de estas ideas geniales se reflejan al día de hoy en cientos de productos de liberación controlada que permiten una administración más cómoda y efectiva de los fármacos. Basta nombrar los sistemas inyectables de liberación de fármacos empleados en el tratamiento de la esquizofrenia y otros trastornos psicóticos, dependencia del alcohol (Risperdal®, Invega®, Vivitriol®), cáncer de próstata (Lupron depot®, Eligard®) y osteoartritis (Ortho Visc®). entre otros, así como numerosos parches de administración transdérmica y una amplia variedad de sistemas de administración oral, como son los basados en el sistema OROS™ (18 medicamentos comercializados) y sobre otras vías mucosas.

Figura 1.- Esquema que muestra hitos importantes en la evolución desde el origen de la Biofarmacia de y de la Farmacocinética en los años 50 hasta la aparición del concepto de Nanomedicina en las década de los 2.000.

El surgimiento de la idea de lograr la liberación controlada de fármacos, se produjo, de manera casual, simultáneamente a la idea de la liberación intracelular de fármacos gracias al uso de la nanotecnología. La nanotecnología, en este contexto, hace referencia al diseño de sistemas de liberación de fármacos de tamaño nanométrico, estando dichas nanoestructuras constituidas por uno o más biomateriales que acompañan a las moléculas del fármaco. La idea de liberar fármacos a nivel intracelular haciendo uso de nanoestructuras se le atribuye al Dr. Alec Bhamgam, quien tratando de diseñar células sanguíneas artificiales llegó a observar unas vesículas constituidas por un interior acuoso y una doble capa fosfolipídica, similar a la membrana celular, a la que llamó liposomas. Además observó que dichas vesículas podían cargarse de fármacos y que podían actuar como sistemas de liberación intracelular. El estudio de los liposomas dio lugar al desarrollo del concepto de vehiculización u orientación selectiva de fármacos (*drug targeting*) anteriormente preconizado por el premio nobel, Paul Herlich, a través de la idea de la “bala mágica”. Básicamente la idea consistió en concebir estas nanoestructuras como pequeños contenedores, similares a células, capaces de transportar los fármacos favoreciendo su estabilidad y liberarlos en el interior de la célula. Al día de hoy existen decenas de tratamientos comercializados, basados en liposomas destinados al tratamiento de enfermedades infecciosas y del cáncer, entre otras patologías.

Ha de reconocerse que la idea de utilizar la nanotecnología como herramienta para diseñar nuevos medicamentos fue también preconizada por el Nobel de química Richard Feynman. No obstante, este gran científico y visionario, no realizó trabajo en dicho campo sino que se aventuró a decir que había un estado de la materia, la nanomateria, aún desconocido y que podría traer consecuencias trascendentales en el ámbito de la salud.

Una vez pronunciados estos descubrimientos y formuladas estas hipótesis, algunos investigadores más aventurados, entre ellos el Prof. Peter Speiser, propusieron el diseño de nanopartículas a partir de polímeros acrílicos y también a partir de la proteína albúmina a mediados de los 70. De hecho, el Prof. Speiser, investigador del ETH (Swiss Federal Institute of Technology) es considerado como el padre de la nanotecnología farmacéutica. Sus trabajos, aunque modestamente seguidos hasta alcanzar la década de los 90, han dado lugar a una formulación nanopartículas de albúmina y paclitaxel, utilizada exitosamente en el tratamiento del cáncer desde hace casi más de una década (Abraxane®), así como otra formulación de nanopartículas de poliacrilatos, actualmente en desarrollo clínico.

En la misma década de los 70, se inicia la gran revolución biotecnológica, dando lugar al desarrollo de nuevas biomoléculas tales como péptidos y proteínas, moléculas que presentan notables limitaciones para su administración debido a su inestabilidad y dificultad para atravesar barreras biológicas. La consciencia de estas dificultades mueve al gran científico Robert Langer, profesor del instituto tecnológico de Massachusetts (MIT), al desarrollo histórico de los sistemas de liberación de proteínas y vacunas.

En definitiva, las décadas de los 60-70 fueron absolutamente críticas para la nanomedicina debido al desarrollo de los liposomas, pero también por representar el origen de las nanopartículas poliméricas y de la liberación controlada de biomacromoléculas.

La década de los 80, prodigiosa para la biotecnología y para la biología molecular y celular, aportó una nueva dimensión al ámbito de la nanotecnología farmacéutica. Consecuencia de ello ha sido un importante arsenal de macromoléculas de naturaleza peptídica y proteínica, surgidas de las tecnologías de recombinación del ADN, con interesantes propiedades terapéuticas y antigénicas. Asimismo, se progresó notablemente en el conocimiento de las barreras biológicas y, con ello, sobre las posibilidades que la nanotecnología y la química de polímeros ofrecen para abordar estas barreras.

Sin duda, la etiqueta distintiva de los avances científicos de la nanomedicina en la década de los 90 es la de la terapia génica, siendo también en estos años cuando tiene su origen el concepto de nanomedicina. Sin embargo, no son menos importantes los avances producidos en iniciativas científico-tecnológicas desarrolladas en décadas anteriores y en particular en cuanto se refiere a los sistemas de liberación de proteínas y vacunas.

La introducción del término de nanomedicina, aunque no de la actividad en dicho ámbito, se le reconoce a Robert Freitas. La década de los 2000 se ha caracterizado no sólo por el gran desarrollo de la nanomedicina, como se refleja en el hecho de que hemos pasado de 10 artículos publicados a finales de los 80 a miles de artículos publicados anualmente en los años recientes. En estos artículos se pone de manifiesto el impacto que la nanotecnología está teniendo en el tratamiento de un amplio espectro de enfermedades. Por orden de impacto cabe destacar el uso de los nanomedicamentos en el tratamiento del cáncer y de graves enfermedades infecciosas.

Los descubrimientos producidos en la década de los 70 y posteriores, en el ámbito de las nanopartículas como vehículos para la orientación selectiva de fármacos por parte de Patrick Couvreur, discípulo del Prof. P. Speiser y, en la liberación controlada de macromoléculas, de la mano de Robert Langer, discípulo del Prof. J. Folkman, determinaron el origen y evolución del laboratorio de Nanotecnología Farmacéutica y Nanomedicina de la USC. En efecto la formación que adquirí bajo la supervisión de los

profesores Langer y Couvreur, me permitió crear este laboratorio que tengo el placer de liderar desde comienzos de los 90. A continuación, presentaré los ámbitos de aplicación de los nanomedicamentos en los que se ha centrado nuestro laboratorio, ámbitos en los que esperamos contribuir aportando mejoras esenciales en el tratamiento de enfermedades de alto impacto en nuestra sociedad.

3. Aplicaciones de los nanomedicamentos

De forma genérica, podemos decir que la nanotecnología permite el diseño de nanovehículos transportadores que permiten a los fármacos superar las múltiples barreras biológicas con las que se encuentran y acceder de forma efectiva al lugar de acción. Obviamente, dichas barreras dependen de la vía de administración y de las células diana sobre las que finalmente han de actuar. En las siguientes líneas veremos algunos ejemplos de los logros alcanzados a la hora de enfrentarse a diferentes barreras y patologías.

Figura 2.- Algunas de las aplicaciones del ámbito de la Nanomedicina que se están estudiando en la Universidad de Santiago de Compostela

3.1. Tratamiento del cáncer

Sin duda el cáncer es una de las patologías que de forma creciente afecta de manera más devastadora a nuestra sociedad. A pesar de los avances logrados en el diagnóstico de diversos tipos de cáncer, muchos de ellos siguen siendo extremadamente difíciles de detectar y de tratar en forma y tiempo conveniente. Dentro de los cánceres más agresivos destacan el cáncer de páncreas y el cáncer de pulmón. En ambos casos el nivel de supervivencia es muy bajo alcanzando el máximo de 5 años de vida en tan solo un 10 de los pacientes tratados, cuando el diagnóstico se realiza en un estadio avanzado, situación altamente frecuente.

Las razones para el todavía ineficiente tratamiento del cáncer son de índole variada. Además del carácter invasivo de las células tumorales, se sabe que los fármacos administrados llegan en una cantidad muy reducida a las células cancerígenas y metastásicas, lo que se traduce en una ineficacia terapéutica y una alta incidencia de efectos adversos. Por ello, el cáncer es una de las enfermedades donde la vehiculización del fármaco a la célula diana se hace más necesaria; y es por ello que la nanotecnología dio sus primeros pasos en el mundo del medicamento precisamente en el tratamiento del cáncer. Desde sus orígenes en la década de los 60 hasta el momento actual, han sido comercializadas 11 formulaciones que son consideradas nanomedicamentos. Entre ellas los liposomas que contienen doxorubicina (Myocet®), indicados en el tratamiento del cáncer de mama metastásico, los liposomas de daunorubicina (Daunosome®) indicados en tratamiento del sarcoma de Kaposi avanzado, los liposomas que contienen vincristina, utilizados en el tratamiento del linfoma no Hodgkin (Marquibo®), Onyvide®, liposomas utilizados en el tratamiento del carcinoma de páncreas, Mifamurtide®, formulación liposomal indicada en el tratamiento del osteosarcoma, Oncospar®, conjugado de L-asparagina utilizado en el tratamiento de la leukemia linfoblástica, Zinostatin, conjugado polimérico utilizado en el tratamiento del hepatocarcinoma celular y las nanopartículas de óxido de hierro indicadas en el tratamiento del glioblastoma. Dentro de los que han alcanzado una mayor proyección comercial por su eficacia en el tratamiento de diversos tipos de cáncer destacan una formulación de liposomas que contienen doxorubicina (Doxil® ó Caelix®) y una formulación de nanopartículas de albumina que contienen paclitaxel (Abraxane®). La mayor eficacia de Abraxane sobre la clásica formulación de paclitaxel (Taxol®) se debe a la interacción de la albúmina con dos proteínas gp60: La

primera de ellas se localiza en la superficie de las células del endotelio vascular y la otra, denominada SPARC (secreted protein acidic rich in cysteine), se encuentra en la superficie de muchas células tumorales e interacciona con la albúmina lo que da lugar a una mayor concentración de paclitaxel en éstas células.

Los avances que ha aportado la nanotecnología al tratamiento del cáncer son notables, sin embargo, aún queda mucho por hacer, y uno de los retos está en la posibilidad de alcanzar las células metastásicas, frecuentemente ubicadas en el torrente linfático. Precisamente en esta línea se ha centrado la actividad en nuestro laboratorio que ha consistido en desarrollar nanovehículos con una afección hacia la linfa (nanosistemas linfotrópicos). En las tesis doctorales de Victoria Lozano, Gustavo Rivera y Felipe Orzayun, pudimos desarrollar nanocapsulas con una alta capacidad de asociación e internalización por las células tumorales y éste trabajo fue seguido por la doctoranda Raquel Abellán para el desarrollo de nanocápsulas linfotrópicas. Los estudios llevados a cabo en colaboración con el laboratorio del prof. A. Vidal, nos permitieron demostrar el carácter linfotrópico de las nanocápsulas y su eficacia a la hora de atacar drásticamente las células metastásicas presentes en el sistema linfático. Por último, el trabajo realizado por la doctoranda Carmen Teijeiro en el marco de un proyecto europeo ha conducido al diseño de un sistema de nanocápsulas dirigidas activamente a las células tumorales, presentes tanto en tejido tumoral (cáncer de pulmón) como en linfa. Esta distribución selectiva del fármaco elegido, docetaxel, permitió alcanzar una concentración de fármaco en tumor que fue 37 veces superior a la conseguida con el tratamiento comercializado, que contenía el mismo fármaco en una formulación convencional (Taxotere®). Además la formulación innovadora de nanopartículas permitió mejorar en gran medida la eficacia del fármaco tras su administración en modelos tumorales de pulmón y páncreas. En definitiva, nos encontramos frente a un sistema altamente especializado cuya funcionalidad en humanos está pendiente de demostrar. Sin embargo, la demostrada eficacia en animales de experimentación nos ha animado a progresar en esta línea que abre interesantes expectativas en el tratamiento de cánceres agresivos como son el cáncer de páncreas o de pulmón.

Además, en el ámbito de cáncer, nuestro grupo está trabajando actualmente en el diseño de nuevas inmunoterapias en un marco de colaboración multidisciplinar con el centro hospitalario Humanitas, en Milán y con la Universidad autónoma de Madrid (Dra. Gema Moreno). En esta línea, los doctorandos Tamara Gómez y el Dr. Fernando Torres, están intentando lograr un efecto farmacológico a nivel de los macrófagos tumorales, que contribuyen al proceso de diseminación tumoral. Asimismo, la Dra. Ana Cadete y los doctorandos Ana Oliveira y Iago Fernández están desarrollando sistemas especializados de liberación intracelular de anticuerpos monoclonales. Esta actividad representa un hito importante en nuestra trayectoria ya que hemos podido demostrar por primera vez la eficacia de anticuerpos monoclonales frente a dianas intracelulares.

3.2. Tratamiento de patologías oculares

Según informes de la OMS, cerca de 300 millones de personas sufrían en el año 2010 problemas de visión y se estima que para el 2020, 76 millones de personas presenten una visión insuficiente a causa de enfermedades como las cataratas, el glaucoma o la degeneración macular. Este escenario pone de relieve la necesidad de lograr tratamientos más efectivos para éstas y otras enfermedades oculares.

Un problema esencial asociado al tratamiento de enfermedades oculares reside en la dificultad para que el fármaco instilado en forma de colirio permanezca en la superficie ocular. En los colirios convencionales, la mayoría del fármaco instilado se pierde tras su

aplicación y la escasa cantidad que persiste, tiene serias dificultades para atravesar la córnea y conjuntiva y acceder al interior de las estructuras oculares (Fig. 3). De hecho, la cantidad de fármaco que llega a su lugar de acción, es generalmente inferior al 1%. Dicho lugar de acción puede encontrarse en la superficie, como es el caso de la conjuntivitis o infecciones superficiales oculares, en cuya circunstancia el acceso a la diana, la conjuntiva, es principalmente una cuestión de retención en la superficie ocular y penetración en las células de la conjuntiva. Sin embargo, en numerosas patologías, como es el caso de glaucoma, enfermedades inflamatorias intraoculares, retinopatía proliferativa de vítreo, y tantas otras, el fármaco se ve obligado a atravesar la córnea previo acceso a dichas dianas. La córnea representa un camino tortuoso para la mayoría de los fármacos y la consecuencia final es un acceso muy limitado y, en consecuencia, un tratamiento deficiente de múltiples patologías oculares.

Figura 3.- Esquema del globo ocular que ilustra diferentes estructuras oculares, entre ellas las asociadas a la cornea, la cual representa una barrera importante a la entrada de fármacos hacia el interior del globo ocular

A finales de la década de los 80, nuestro grupo de investigación junto con otros grupos situados en la esfera internacional, propuso la idea de utilizar nanoestructuras capaces de interaccionar con la superficie ocular y de ser internalizadas en el epitelio corneal. Desde un punto de vista conceptual fue crítico el trabajo realizado en la tesis doctoral de Pilar Calvo en el que revelamos la capacidad de las nanopartículas de poliésteres para atravesar una barrera considerada hasta el momento como infranqueable, como es la córnea. Además, los estudios llevados a cabo en conejos por las doctorandas Cándida Losa, Pilar Calvo y Ángela Machado, en colaboración con el equipo del Dr. Pastor en la Universidad de Valladolid, nos permitieron observar que ciertas nanopartículas presentaban una capacidad notable para favorecer la entrada de fármacos como el anti-glaucomatoso, metipranolol y los anti-inflamatorios indometacina y ciclosporina A. Este aumento en la penetración corneal y conjuntival, se tradujo en algunos casos en una mejora sustancial en el tratamiento de la patología ocular y una reducción de los efectos sistémicos asociados a dichos tratamientos. Asimismo, estos trabajos nos llevaron a comprobar que el tamaño de las nanoestructuras, su composición superficial, y en particular su capacidad adhesiva, eran factores determinantes en su internalización por parte de las células corneales y conjuntivales (De Campos, 2003, 2004; Enriquez de Salamanca, 2006).

Los avances logrados con los fármacos citados, nos llevaron a explorar el ámbito de la terapia génica para el tratamiento de patologías oculares. Nuestra prueba de concepto consistió en asociar a las nanopartículas moléculas de ADN y siRNA modelo, que de forma visual nos permitiese apreciar la liberación y expresión de dichas moléculas a nivel del epitelio corneal y conjuntival. Los resultados de las tesis doctorales de María de la Fuente, Manuela Raviña y Sonia Reimondez nos llevaron a concluir que, en efecto, dichos tratamientos pueden ser efectivos. Por ello, en la actualidad la doctoranda Sofía Saraiva y la Dra. Vanessa Castro están procediendo a la asociación de candidatos a fármacos siRNA desarrollados por la empresa Sylentis, a fin de evaluar el potencial de nuestras tecnologías para favorecer la acción de los mismos en el tratamiento del ojo seco y del glaucoma.

Figura 4.- Esquema y fotografía tomada en el microscopio electrónico de transmisión que ilustran la estructura de las nanocápsulas diseñadas en la Universidad de Santiago de Compostela para transportar fármacos antitumorales, tanto a las células tumorales como a las células metastásicas ubicadas en el torrente linfático

El conocimiento generado a lo largo de estas décadas, ha dado lugar al desarrollo de una amplia variedad de formulaciones comercializadas para el tratamiento del ojo seco bajo la forma de liposomas o de nanoemulsiones que carecen de fármaco y que se caracterizan por permanecer en la superficie ocular de forma prolongada, aportando así la hidratación que el ojo necesita. Además, se han desarrollado nanomedicamentos innovadores para el tratamiento de enfermedades inflamatorias haciendo uso de los fármacos ciclosporina A (Restasis®, Lipomil®) y difluprednato (Durezol®) incorporados en nanoemulsiones y liposomas, así como la verteporfina (Visudyne®) y el aptámero pegaptanib (Macugen®), utilizados en el tratamiento de la degeneración macular. Por último, cabe destacar la comercialización inminente del tratamiento basado en el uso de nanopartículas para el tratamiento de la inflamación y del dolor causado tras intervenciones quirúrgicas oculares. Dicho tratamiento que contiene el fármaco KPI-121 ha sido desarrollado por la empresa Kala Biosciences y el principio de su tecnología se basa en la capacidad de las nanopartículas del fármacos para penetrar a través del moco que recubre la superficie ocular.

3.3. Tratamiento de la diabetes, obesidad y otras patologías por vía oral

La llegada de la biotecnología ha traído como consecuencia un amplio arsenal de macromoléculas biológicas capaces de actuar como fármacos. De hecho, más de la mitad de los fármacos comercializados a lo largo de la última década son denominados fármacos biológicos, obtenidos mediante técnicas de recombinación genérica, frente a las tendencias más clásicas de la química sintética. Sin embargo, estos nuevos fármacos no están exentos de problemas, y uno de los más importantes está ligado a su dificultad para atravesar barreras biológicas. Un ejemplo clásico e ilustrativo es la insulina, cuya respuesta biológica es altamente variable y requiere del uso de la inyección. Ciertamente, todo tipo de proteínas, péptidos, polinucleótidos y otras macromoléculas biológicas son rápidamente degradadas en el tracto intestinal y son incapaces de atravesar la pared intestinal para acceder a su lugar de acción, localizado a nivel sistémico.

Enfermedades de altísima incidencia como son la obesidad y la diabetes, así como otras enfermedades de origen autoinmune, se tratan en la actualidad con fármacos que son proteínas biológicas. Lamentablemente, estos tratamientos realizados mediante inyección, no resultan plenamente eficaces y están asociados a un elevado nivel de incumplimiento por parte del paciente. Frente a esta situación claramente alarmante, nuestro laboratorio se planteó hace una década la posibilidad de hacer uso de la nanotecnología para mejorar la protección de estas biomoléculas frente a su degradación y mejorar su transporte a través del epitelio intestinal y también del epitelio nasal. Los resultados de estos estudios preliminares llevados a cabo en las tesis de los doctorandos Marcos García, Noemi Csaba, Cecilia Prego, María Alonso, Desiré Teijeiro y Ángela Valle, nos llevaron a generar ciertas expectativas con arreglo a la posibilidad de mejorar la absorción de péptidos y polinucleótidos tras su administración por vía nasal u oral.

A la vista de los resultados, nos planteamos abordar en profundidad el posible papel de la nanotecnología en la resolución de los problemas asociados a la administración oral de péptidos y proteínas. Y para ello, en el año 2011, propuse la creación de un consorcio europeo especializado en el abordaje de esta temática. El consorcio, constituido por 16 laboratorios que incluían nanotecnólogos, químicos, biólogos e inmunólogos, procedentes del entrono académico y de diversas industrias farmacéuticas, realizó durante los últimos 5 años un estudio sobre los mecanismos de interacción de una amplia variedad de nanosistemas con el tracto gastro-intestinal. Los resultados de este estudio llevaron a la conclusión de que dicha interacción se produce de forma muy variable dependiendo de la composición, tamaño y carga eléctrica superficial de los nanosistemas. Se identificaron

como barreras biológicas críticas, la acción degradativa de los enzimas intestinales, la penetración a través de manto de moco que recubre el epitelio intestinal y el propio epitelio intestinal. Del conjunto de los sistemas desarrollados en nuestro grupo de investigación por los doctores Lu Thagala, Niu Zhigao, Eleni Samaridou, Ana González, Matilde Duran e Irene Santalices, se identificaron ciertos sistemas capaces de superar las mencionadas barreras. Por otro lado, se observó que la interacción con el epitelio intestinal se producía de dos modos: (i) actuando como sistema de transporte de la molécula asociada –insulina- hacia el torrente sanguíneo; (ii) favoreciendo la acumulación del fármaco proteico a nivel del epitelio intestinal. De este modo, se propuso la posible utilización de determinados nanosistemas para mejorar la absorción de ciertas macromoléculas, entre ellas la insulina, mientras que otros nanosistemas fueron propuestos para la lograr la acumulación de la proteína a nivel del epitelio intestinal. Esta última situación sería de interés para tratar enfermedades intestinales, tales como la colitis ulcerosa o la enfermedad de Crohn.

Figure 5. Esquema ilustrativo de la barrera intestinal (izquierda) en la que se muestra el transporte de nanopartículas diseñadas en la Universidad de Santiago de Compostela (USC) para lograr la administración oral de fármacos peptídicos. Las nanopartículas han de ser mucodifusivas y facilitar llegada y, en su caso, el transporte del fármaco a través del epitelio intestinal. Fotografía tomada en el microscopio confocal de fluorescencia (derecha) de una sección transversal de la mucosa intestinal de un donante (tejido humano) que ha sido expuesta a su contacto con las nanopartículas producidas en al USC. Las nanopartículas interaccionan con las mucosa formando una línea verde.

Creo conveniente resaltar que este ámbito de la nanotecnología, se encuentra aún en una fase exploratoria, como de hecho lo demuestran los hallazgos del consorcio mencionado. Hasta el momento, son varias las tecnologías que han alcanzado el desarrollo clínico inicial, si bien dichas tecnologías no han progresado en dicho desarrollo. Este hecho podría deberse al todavía limitado conocimiento sobre el modo de interacción de los nanomateriales con su entorno biológico intestinal. Parece, no obstante, previsible, que ciertas tecnologías puedan evolucionar en su aplicación para la vía oral, en virtud de la selección de la molécula biológica adecuada y de su posible indicación, bien para conseguir un efecto local o sistémico.

3.4. Prevención de enfermedades mediante el uso de nanovacunas

Una de las primeras aplicaciones de las nanopartículas fue estudiada por Peter Speiser y col. en el ámbito de las vacunas, en la década de los 70. La premisa de partida se basaba en que las nanopartículas podrían alertar al sistema inmune actuando así como agentes adyuvantes de un modo controlado. Con ello se pretendía sustituir al adyuvante universal basado en aluminio, el cual produce, a veces reacciones adversas y presenta problemas de almacenamiento. En la misma época, el Prof. Robert Langer propuso la idea de liberar de antígenos, de forma controlada, a partir de un soporte polimérico, para así prolongar su respuesta y evitar el calendario de vacunación múltiple requerido para la mayoría de las vacunas. Yo, tuve la suerte de colaborar con el Prof. Langer en la aplicación de esa idea al caso particular de la vacuna antitetánica bajo los auspicios de la Organización Mundial de la salud, a principios de los 90. Se trataba de un objetivo de mejora de salud global gracias al uso de técnicas que permitiesen mejorar la administración (una inyección en lugar de tres) y la conservación de la vacuna antitetánica en los países en vías de desarrollo. A pesar de los resultados prometedores a nivel preclínico, dicha vacuna no pudo trasladarse a la práctica clínica debido a la problemática asociada al coste de las materias primas y del proceso de fabricación. Al tratarse de un objetivo orientado a los más desfavorecidos, se consideró que el coste del producto resultaría inabordable por

dichos países. Sin embargo, ese conocimiento suscitó en nuestro grupo de investigación una idea más ambiciosa, la de desarrollar vacunas no inyectables, recurriendo a su administración por vía nasal. Nuestra idea se basaba en el uso de la nanotecnología y en la premisa de que las nanopartículas son capaces de superar la barrera nasal y trasladar el antígeno asociado a las células del sistema inmune subyacentes en la mucosa nasal. Para ello, en la tesis de María Tobío, llevamos a cabo un estudio pionero que nos llevó a seleccionar determinados biomateriales por su capacidad para mejorar el transporte de antígenos a través de la mucosa nasal. Entre dichos biomateriales se encontraba el quitosano, polímero de origen natural, procedente de la quitina extraída del caparazón de los crustáceos.

Nuestros hallazgos con relación al potencial de las nanopartículas para su administración por vía nasal, nos llevó a participar en un programa de salud global financiado por la fundación “Bill & Melinda Gates”, cuyo objetivo era el desarrollo de vacunas no inyectables y termoestables. Una vez más, se trataba de una estrategia dirigida a los países más pobres, aquéllos que carecen de los recursos necesarios para lograr la vacunación de la población mediante inyección debido a su deficiente estructura sanitaria. En este caso, el antígeno elegido fue el antígeno recombinante de la hepatitis B, un antígeno de demostrada eficacia, pese a lo cual existen muchas personas en el mundo desprotegidas frente a esta infección, debido a su deficiente vacunación. En las tesis doctorales de Sara Vicente, Jorge Pinto y José Vicente González realizadas con colaboración con la Dra. África González, logramos el desarrollo de diversos prototipos que resultaron prometedores en base a los resultados obtenidos en animales de experimentación. Sin embargo, una vez más, esta estrategia de vacunación no pudo ser trasladada a la práctica clínica debido a la falta de interés del sector industrial en el desarrollo de un producto “a priori” innecesario para los países desarrollados, e inabordable económicamente por parte de los más pobres.

En base a esta experiencia, y conocida la problemática asociada a la traslación de los resultados a la práctica clínica, a lo largo de los últimos años, gracias a la financiación del Instituto de Salud Americano (NIH), formamos parte de un consorcio investigador cuyo objetivo reside en desarrollar una vacuna frente al sida. El antígeno está constituido por un conjunto de fragmentos peptídicos que hemos logrado asociar a determinadas nanopartículas, para así lograr una presentación más efectiva al sistema inmune. Con arreglo a nuestras expectativas, dicha formulación de nanopartículas cargadas de péptidos antigénicos dio lugar a una respuesta inmune notable tras su administración por vía nasal, en macacos utilizados como animales de experimentación. En el momento actual nos encontramos en fase de validación de esta respuesta, ampliando el número de macacos, a la vez que colaboramos en un consorcio europeo en el que nuestro objetivo se centra en realizar el salto de escala para la fabricación del prototipo mencionado. Además hemos podido comprobar la estabilidad de la vacuna durante periodos de tiempo prolongados.

A la espera de validar los resultados de los estudios llevados a cabo para la vacuna del sida, los resultados obtenidos en las últimas dos décadas, por nuestro grupo de investigación y por otros, nos llevan a concluir que es posible mejorar la presentación de un antígeno al sistema inmune a través de su incorporación en nanosistemas de características adecuadas. En este sentido, en la tesis de Sara Cordeiro, hemos podido apreciar como el acceso de las nanopartículas al sistema linfático, donde residen una alta proporción de células inmunitarias, está condicionado por el tamaño y propiedades físico-químicas de las nanoestructuras, además de por su composición. De este modo, aunque no se han identificado composiciones universales, de interés generalizado, si existe un

conocimiento importante sobre posibles estrategias de formulación adaptables a diferentes tipos de antígenos. Asimismo, en las tesis doctorales de Tamara Gómez y de Ana Olivera, hemos podido mostrar la posibilidad de asociar dentro del mismo sistema, diversos antígenos y moléculas inmunoregulatoras, lo que sin duda contribuirá a obtener una respuesta inmune más robusta. Algunas estructuras modelo se reflejan en la figura...

Figura 5.- Ilustración gráfica de una estructura de nanocápsulas que contienen uno o más antígenos asociados, así como uno o varios agentes inmunomoduladores. Los agentes inmunomoduladores promueven la actividad de los antígenos asociados.

Por último, conviene destacar que los esfuerzos orientados a la formulación de vacunas, no han sido en vano y que en la actualidad existen varias formulaciones comercializadas, como las que se describen a continuación.

El Epaxal® es una vacuna comercializada para la prevención de la hepatitis que está basada en el concepto de los virosomas, que son estructuras liposomales que contienen glicoproteínas virales convenientemente insertadas en su superficie.

La denominación MF59™ representa una serie de adyuvantes de la firma Novartis basadas en nanoemulsiones de escualeno convenientemente estabilizadas. Han sido comercializadas como formulaciones de vacunas de la gripe estacional y pandémica.

Las denominaciones AS02 y AS03™ representan una serie de adyuvantes de la firma GSK basadas en el uso de nanoemulsiones, que han sido propuestas para la formulación de la vacuna de la gripe y la vacuna de malaria, ésta última en fase de investigación clínica.

La denominación AS01™ se refiere a una formulación de liposomas que contiene el inmunostimulante MPL (lípidos fosforilados) y un antígeno frente a malaria.

La denominación AF03™ hace referencia al adyuvante de la firma Sanofi-Aventis presentado igualmente bajo la forma de emulsión de escualeno. Existe una formulación de la vacuna de la gripe comercializada.

El Stivumax® es una vacuna terapéutica consistente en liposomas que contienen un lipopéptido dirigido específicamente al antígeno MUC1 típico de cáncer de pulmón de células grandes.

Montanide™ es una emulsión que se utiliza como formulación de una vacuna frente al cáncer de pulmón.

En definitiva, el campo de las vacunas es un campo ampliamente abierto a la innovación en términos no únicamente de generar nuevos antígenos sino sistemas adyuvantes modernos seguros y eficaces, aspecto en el que la nanotecnología puede dar lugar a importantes aportaciones.

4. Conclusiones y perspectivas futuras

De forma gradual, a lo largo de las últimas décadas, los nanomedicamentos se han ido introduciendo en el mercado. Es bien cierto que comparado con la totalidad del mercado farmacéutico, estas nuevas terapias representan únicamente un pequeño nicho. Sin embargo, la creciente demostrada capacidad de estas tecnologías para mejorar el balance eficacia/toxicidad de medicamentos conocidos, así como para hacer factibles

nuevas terapias, como es el caso de la terapia génica, ha suscitado la atención del mundo académico y también de la industria, hecho demostrado, entre otros, por el incremento exponencial en el número de patentes. Hemos de reconocer, sin embargo, que existen dudas importantes en relación con los aspectos regulatorios derivados de un desconocimiento en profundidad del comportamiento biológico de las nanoestructuras. A pesar de ello, en conjunto, el análisis de la evolución de la nanotecnología farmacéutica nos lleva a prever un futuro prometedor. En mi opinión, es previsible que los ámbitos de actuación dirigidos al desarrollo de nuevas terapias basadas en la nanociencia y la nanotecnología, se sitúen en:

- El desarrollo de nuevos biomateriales y nanoestructuras. Siguiendo la tendencia reciente, cabe esperar el desarrollo de nuevas nanoestructuras biomiméticas, ideadas a partir del conocimiento del comportamiento de sistemas biológicos, así como nanosistemas con múltiples funciones, capaces de incorporar varios fármacos o antígenos y sustancias adyuvantes.
- El desarrollo de nuevas metodologías sencillas, inocuas y fácilmente escalables. En esta línea, y a pesar del ingente número de tecnologías complejas desarrolladas en los últimos años, es previsible una tendencia a la simplificación que pueda traducirse en una fácil traslación para la producción a gran escala.
- En cuanto a los ámbitos de aplicación, y siguiendo la corriente de las últimas tres décadas, es previsible un avance notable en el desarrollo de sistemas de transporte y liberación de macromoléculas biológicas. Dichos nano-transportadores podrían ser de aplicación en la administración de péptidos, proteínas, anticuerpos monoclonales y polinucleótidos, de forma particular siRNA.
- En cuanto a las terapias susceptibles de obtener un mayor beneficio de la aproximación nanotecnológica destacan principalmente:
 - a) Terapias oncológicas basadas en moléculas de bajo peso molecular, pero sobre todo en proteínas, anticuerpos monoclonales y si RNA. Los nanotransportadores aportarán una mayor selectividad y eficacia a estos tratamientos.
 - b) Terapias cardiovasculares dirigidas a la localización de nanoestructuras en regiones de interés a nivel cardíaco y circulatorio.
 - c) Terapias antiinflamatorias y autoinmunes, que tendrán especial interés en el tratamiento de mucosas y cavidades articulares.
 - d) Terapias neurológicas, dirigidas principalmente a atravesar la barrera sangre-cerebro.
 - e) Terapias locales: dérmicas, oculares, pulmonares. Éste será un ámbito de especial aplicación desde la perspectiva de la terapia génica y el tratamiento de procesos inflamatorios, infecciones y, en general, relacionados con el sistema inmune.
 - f) Vacunas: es esperable que la nanomedicina contribuya de forma contundente al desarrollo de nuevas vacunas así como al incremento significativo de vacunas terapéuticas. La asociación de antígenos junto con componentes inmunoestimulantes bajo la forma de nanoestructuras permitirá mejorar la capacidad protectora de las vacunas, a la vez que una más fácil administración.

Teniendo en cuenta que en la actualidad existen cerca de 50 productos nanotecnológicos comercializados y decenas de candidatos en fase de desarrollo clínico, así como el incremento exponencial en el conocimiento generado en el ámbito académico, parece lógico esperar que en un futuro cercano los nanomedicamentos se hayan convertido en

importantes herramientas terapéuticas, ayudando no sólo a salvar vidas sino también a mejorar la calidad de nuestras vidas.

AGRADECIMIENTOS

Los siguientes investigadores y profesores han colaborado en la realización de los trabajos a los que se hace referencia en el documento:

Prof. Begoña Seijo
Prof. Dolores Torres
Prof. Carmen Remuñán-López
Prof. Marcos García
Prof. Noemi Csaba
Prof. Alejandro Sánchez
Dr. José Crecente
Dr. Desirée Teijeiro

Las siguientes instituciones han contribuido a la financiación del trabajo presentado en este documento:

- Consellería de Industria y Consellería de educación de la Xunta de Galicia
- Ministerio de Economía y Competitividad, Ministerio de Ciencia e Innovación, Ministerio de Educación, Ministerio de Sanidad y Seguridad Social
- Comisión Europea, programas FP7 y Horizonte2020
- Fundación “Bill y Melinda Gates”

Por último, mi agradecimiento a los siguientes investigadores que han contribuido a la elaboración de las ilustraciones contenidas en este artículo:

FUENTES BIBLIOGRÁFICAS CONSULTADAS

TESIS DOCTORALES:

“Development and evaluation of polymer nanoparticles as new ophthalmic drug delivery systems”, Cándida María Losa Iglesias (1991)

“Encapsulation of Cyclosporin A within micro and nanoparticles made of poly(lactide-co-glycolide) copolymers”, Alejandro Sánchez Barreiro (1993)

“Development of new colloidal drug delivery systems for topical ocular administration”, Pilar Calvo Salve (1995)

“Biodegradable polymer micro and nanoparticles for the controlled release of proteins and antigens”, Dolores Blanco Lousame (1997)

“Biodegradable polymer micro and nanoparticles for the controlled release of tetanus toxoid”, María Tobío Barreira (1998)

“Biodegradable nanoparticles for the transport of macromolecules across mucosal surfaces”, Ana Vila Pena (2001)

“Development of chitosan-based mucoadhesive systems for gastric drug delivery”, Ana Portero Capdevila (2002)

“Biopharmaceutical study of colloidal systems as ocular drug carriers”, Angela Machado de Campos (2003)

“Development and characterization of phospholipid-nanoparticulate complexes as carriers for the transmucosal administration of macromolecules”, Edison Santana Carvalho (2004)

“Lipid nanoparticles modified with hydrophilic polymer coatings: their potential as peptide carriers for oral administration”, Marcos García Fuentes (2004)

“Biodegradable polymeric nanoparticles as carriers for gene delivery”, Celso F. Pérez Álvarez (2004)

“Development of new vehicles for the administration of genetic vaccines”, Noémi Stefânia Csaba (2005)

“Chitosan nanocapsules: new vehicles for peptide transportation through the nasal and intestinal mucosa”, Cecilia Prego Rodríguez (2005)

“New vectors in Ocular Gene Therapy: Hialuronic and Chitosan acid nanoparticles”, Maria de la Fuente Freire (2006)

“Polymeric nanoparticles modified with manose: new systems for the administration for therapeutic macromolecules”, Maria Alonso Sande (2006)

“Development of micro and nanoparticles of polycacharides for the pulmonar and nasal administration of therapeutic macromolecules”, Desirée Teijeiro (2007)

“Polycationic nanocapsules: new systems for the intracelular release of antitumor drugs”,

M^a Victoria Lozano López (2009)

“Design of polymeric nanosystems for the transport of genetic material”, Manuela Raviña (2009)

“Nanosystems for the transmucosal delivery of antidiabetic drugs”, Angela Valle Gallego (2010)

“Nanomedicines for the localized treatment of lung pathologies”, Felipe Oyarzún Ampuero (2012)

“Poliarginine and caseine nanocapsules: new nanocarriers of anticancer drugs²”, Gustavo Rivera (2012)

“New polyminoacid nanocarriers and their role in anticancer drug delivery”, Giovanna Lollo (2012)

“Polysacharidic nanocapsules as vaccine adjuvant vehicles”, Sara Vicente (2013)

“New protamine-based nanosystems for antigen delivery”, José Vicente González (2014)

“Nanovaccines: Design of nanostructures for immunization”, Jorge Filipe Correia Pinto (2015)

“Nanocapsules targeted to the lymphatic system: An approach to the treatment of metastatic cancer”, Raquel Abellán Pose (2015)

“Multifunctional nanocapsules for selective release of anti-cancer drugs”, Carmen Teijeiro Valiño (2016)

“Rational design of nanocarriers for oral peptide administration”, Niu Zhigao (2016)

“Protamine nanocapsules as carrier for oral peptide delivery”, Lungile Thwala (2016)

“Rational design of polymer-based nanosystems for an efficient targeting of the immune system”, Sara Cordeiro (2017)

ARTÍCULOS DE REVISIÓN DE RECIENTE PUBLICACIÓN:

Hervella P., Lozano V., García-Fuentes M., Alonso M. J., Nanomedicine: New challenges and opportunities in cancer therapy, **J. Biomed. Nanotechnol.** 4, 276-292 (2008)

De la Fuente M., Csaba N., García-Fuentes M., Alonso M. J., Nanoparticles as protein and gene carriers to mucosal surfaces, **Nanomedicine**, 3, 845-857 (2008)

Csaba N., García Fuentes M., Alonso M.J., Nanoparticles for nasal vaccination, **Adv. Drug Deliv. Rev.**, 61, 140-57 (2009)

Paolicelli P., De la Fuente M., Sánchez A., Seijo B., Alonso M.J., Chitosan nanoparticles for drug delivery to the eye., **Expert Opin. Drug Deliv.**, 6, 239-253 (2009)

Alonso-Sande M., Teijeiro-Osorio D., Remuñán-López C., Alonso M.J., Glucomannan, a promising polysaccharide for biopharmaceutical purposes, **Eur. J. Pharm. Biopharm.**, 72, 453–462 (2009)

De la Fuente M., Raviña M., Paolicelli P., Sanchez A., Seijo B., Alonso M.J., Chitosan-based nanostructures: a delivery platform for ocular therapeutics, **Adv. Drug Deliver. Rev.**, 62, 100–117 (2010)

Lollo G., Rivera Rodríguez G., Torres D., Alonso M.J., Nanoterapias oncológicas: aplicaciones actuales y perspectivas futuras, *Anales de la Real Academia Nacional de Farmacia*, 77, No 4 (2011)

Herrero E.P., Alonso M.J., Csaba N, Polymer-based oral peptide nanomedicines, **Therapeutic Delivery**, 3, 657-668 (2012)

Garcia-Fuentes M., Alonso M.J., Chitosan-based nanocarriers: Where do we stand?, **J. Control. Rel.**, 161, 496-504 (2012)

Correia-Pinto J., Csaba N., Alonso M.J., Vaccine delivery carriers: Insights and future perspectives, **Int. J. Pharmacol.**, 440, 27-38 (2013)

Pereira Gomes C, Ferreira Lopes C.D, Duarte Moreno P.D., Varela-Moreira A., Alonso M.J., Pêgo A.P., Translating chitosan to clinical delivery of nucleic acid-based drugs, **MRS Bulletin**, 39, 60-70 (2014)

Alonso M, Lozano M.V, Lopez R, Alonso M.J, Nanomedicamentos contra el cancer, **Investigación y Ciencia**, 450 (2014)

Torres-Andón F., Alonso M.J., Nanomedicine and cancer immunotherapy - targeting immunosuppressive cells, **J. Drug Targeting**, 23, 656-671 (2015)

Reimondez-Troitiño S., Csaba N., Alonso M.J., de la Fuente M., Nanotherapies for the treatment of ocular diseases, **Eur. J. Pharm. Biopharm.** 95, 279-293 (2015)

Cordeiro A.S, Alonso M.J, de la Fuente M., Nanoengineering of vaccines using natural polysaccharides, **Biotechnology Advances**, 33, 1279-1293 (2015)

Cordeiro A.S., Alonso M.J., Recent advances in vaccine delivery, **Pharmaceutical Patent Analyst**, 5, 49-73 (2016)

Niu, Conejos-Sánchez I., Griffin B, O'Driscoll C., Alonso M.J., Lipid-based nanocarriers for oral peptide delivery, **Adv. Drug Deliver. Rev.**, 106-Part B, 332-354 (2016)

Aguirre T.A.S., Teijeiro-Osorio D., Rosa M., Coulter I.S., Alonso M.J., Brayden D.J., Current status of selected oral peptide technologies in advanced preclinical development and in clinical trials, **Adv. Drug Deliver. Rev.**, 106-Part B, 223-241 (2016)

Reimondez-Troitiño S., Alcalde I., Csaba N., Íñigo Portugués A., De la Fuente M., Bech F., Riestra A. C., Merayo-Lloves J., Alonso M.J., Polymeric nanocapsules: a potential new therapy for corneal wound healing, **Drug Delivery and Translational Research**, 6(6), 708-721 (2016)

Griffin B.T., Guo J., Presas E. , Donovan M.D., Alonso M.J., O'Driscoll C.M., Pharmacokinetic, pharmacodynamic and biodistribution following oral administration of nanocarriers containing peptide and protein drugs, **Adv. Drug Deliver. Rev.**, 106-Part B, 367-380 (2016)

Abellan-Pose R., Csaba N., Alonso M.J., Lymphatic Targeting of Nanosystems for Anticancer Drug Therapy, **Current Pharmaceutical Design**, 22, 1194-1209 (2016)

Cadete A., Alonso M.J., Targeting cancer with hyaluronic acid-based nanocarriers: recent advances and translational perspectives, *Nanomedicine*, Vol. 11, 2341-2357 (2016)

Brayden D., Alonso M.J. Oral delivery of peptides — Opportunities and issues for translation, **Adv. Drug Deliver. Rev.**, 106-Part B, 193-195 (2016)

VI.2.3. Terapias génicas

Como se señaló anteriormente el concepto de terapia génica ha suscitado grandes expectativas acompañadas de ciertas decepciones. Sin embargo, el análisis de los resultados y el elevado número de ensayos clínicos en fase de desarrollo nos lleva a considerar el interesante potencial de este tipo de terapias. En efecto, esta opción terapéutica está siendo aplicada en el tratamiento de una amplia variedad de enfermedades, mayoritariamente cáncer, pero también enfermedades cardiovasculares, neurológicas, infecciosas y oculares. Asimismo, y basándose en el mismo concepto, está cobrando un notable interés la vacunación genética (Silva, 2009). Con todo, es importante destacar el hecho que los resultados obtenidos hasta el momento con nanoestructuras sintéticas están lejos del éxito logrado con los vectores virales. Así, en un estudio recientemente publicado en el Journal of gene medicine se indica que cerca del 50% de los ensayos clínicos en desarrollo utilizan vectores virales (adenovirus, retrovirus y virus adeno-asociados), mientras que los vectores lipídicos y otros tipos de vectores sintéticos no llegan a alcanzar la cifra del 10% (Journal of Gene Therapy: <http://www.wiley.co.uk/genetherapy/clinical/>).

A continuación se describen las terapias génicas que han sido objeto de desarrollo y comercialización:

VITRAGENE®: oligonucleótido antisentido indicado en el tratamiento de la retinitis causada por cytomegalovirus en pacientes con sida. Desarrollado por la empresa Novartis, fue aprobado por la FDA en 1998 y posteriormente por la EMEA. Sin embargo, su comercialización ha sido interrumpida debido a la escasa incidencia de esta enfermedad y porque ha sido desplazado en su indicación por un nuevo tratamiento:

MACUGEN®: oligonucleótido antisentido modificado químicamente con PEG que inhibe la actividad del Factor de Crecimiento del Endotelio Vascular (VEGF165). Desarrollado por Pfizer y aprobado por la FDA en el 2004, y por la EMEA en el 2006. Está indicado para el tratamiento de la degeneración macular neovascular (exudativa) asociada a la edad (DMAE).

GENDICINE®: terapia adenoviral indicada en el tratamiento de procesos tumorales mediados por disfunciones en el gen codificador de la proteína p53, desarrollada por la empresa (Chinese Shenzhen SiBiono Genetechnologies) y aprobada en China para su uso clínico en el tratamiento del cáncer de cuello y cabeza en 2003.

ENCORINE®: terapia indicada en el tratamiento de procesos tumorales mediados por disfunciones en el gen codificador de la proteína p53, desarrollada por la empresa Shanghai Sunway Biotech y aprobada para su uso clínico en 2005.

Un acontecimiento particularmente importante en terapia génica, y que guarda estricta relación con los vectores sintéticos, es el descubrimiento de la existencia del RNA interferente. Este descubrimiento ha merecido el premio nobel de medicina, concedido a Andrew Fire and Craig Mello en el año 2006. Los SiRNA son RNA de doble cadena y, en general, de peso molecular más pequeño que los plásmidos ADN. El siRNA actúa a nivel

del mRNA reduciendo la síntesis de la proteína causante de la enfermedad. En principio, todas las enfermedades causadas por la actividad de uno o varios genes pueden ser tratadas mediante RNAi.

Además de su diferencia con los pDNA en tamaño y mecanismo de acción, existen dos aspectos fundamentales que inducen a pensar en un interesante potencial terapéutico para el siRNA. Por un lado, el método habitual para producir siRNA es mediante síntesis química. Desde un punto de vista regulatorio, el siRNA entra en la categoría de fármaco, entendiéndose como tal a una estructura química fácilmente analizable tras su síntesis. Por el contrario, la mayoría de los productos de terapia génica entran en la categoría de productos biológicos, siendo los requerimientos para su desarrollo superiores a los correspondientes a un fármaco. Por otro lado, la vehiculización del siRNA no puede ser llevada a cabo por vectores virales como ocurre en el caso de pDNA, pero puede ser llevada a cabo de forma más sencilla haciendo uso de vectores sintéticos.

Estos aspectos diferenciales justifican el hecho de que a pesar de su escaso tiempo de desarrollo, exista a día de hoy una abundante literatura al respecto (Martinprey, 2009; Whitehead, 2009) además de numerosas formulaciones en ensayos clínicos, entre las que destacan las que se recogen en la tabla.

Tabla 1: Ensayos clínicos que se encuentran en desarrollo con siRNA. (---) Administrados en solución salina.

Compañía	siRNA	Tratamiento	Vía administración	Formulación	Fase clínica
Opko Health	Bevasiranib	Degeneración macular asociada a la edad	Intravítrea	---	Fase III
		Edema diabético macular	Intravítrea	---	Fase II
Alnylam Pharmaceuticals	ALN-RSV01	Virus sincitial respiratorio	Intranasal	---	Fase II
Allergan	Sirna-027 (AGN211745)	Degeneración macular asociada a la edad	Intravítrea	---	Fase II
Quark Pharmaceuticals, and Silence Therapeutics	RTP801i-14	Degeneración macular asociada a la edad	Intravítrea	----	Fase I
	I5NP	Fallo renal agudo	Intravenosa	---	Fase I
	Atu027	Tumor sólido	Intravenosa	Lipídica	Fase I
Calando Pharmaceuticals	CALAA-01	Tumor sólido	Intravenosa	Nanopartícula polimérica	Fase I
Nucleonics	NUC B1000	Virus hepatitis B	Intravenosa	Lípidos catiónicos	Fase I
TransDerm	TD101	Pachyonychia congénita	Intradérmica	---	Fase I

En este punto, merece la pena destacar la contribución de nuestro grupo de investigación al desarrollo de nuevos vehículos para el transporte de material genético. Nuestra actividad se inició en el 2000 con el desarrollo de nanopartículas de PLGA capaces no únicamente de transportar el material genético sino también de liberarlo de forma controlada en el interior de la célula (Celso, 2001). Este trabajo, que constituyó la tesis doctoral de Celso Pérez, fue continuado por las doctorandas Noemi Csaba, quien puso de manifiesto la importancia de esos vehículos para la inmunización genética por vía nasal (Csaba, 2006) y por María de la Fuente, quien desarrolló nuevos vehículos de terapia génica particularmente adaptados para la vía ocular (De la Fuente, 2008). Estos trabajos, desarrollados en colaboración con Alejandro Sánchez y Begoña Seijo, han desembocado en un trabajo reciente de Manuela Raviña orientado al desarrollo de vehículos de especial interés para el transporte de siRNA. En este último, han participado igualmente los grupos de la Dra. Cano y el Dr. Riguera.

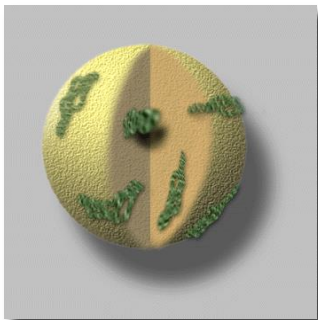
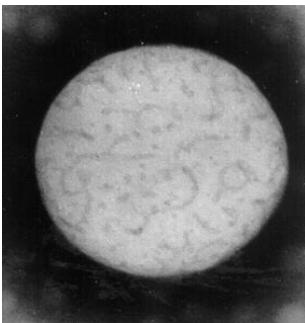


Figura 12.- Ilustración simulada e imagen tomada en el microscopio electrónico de transmisión de una nanopartícula de PLGA conteniendo pDNA

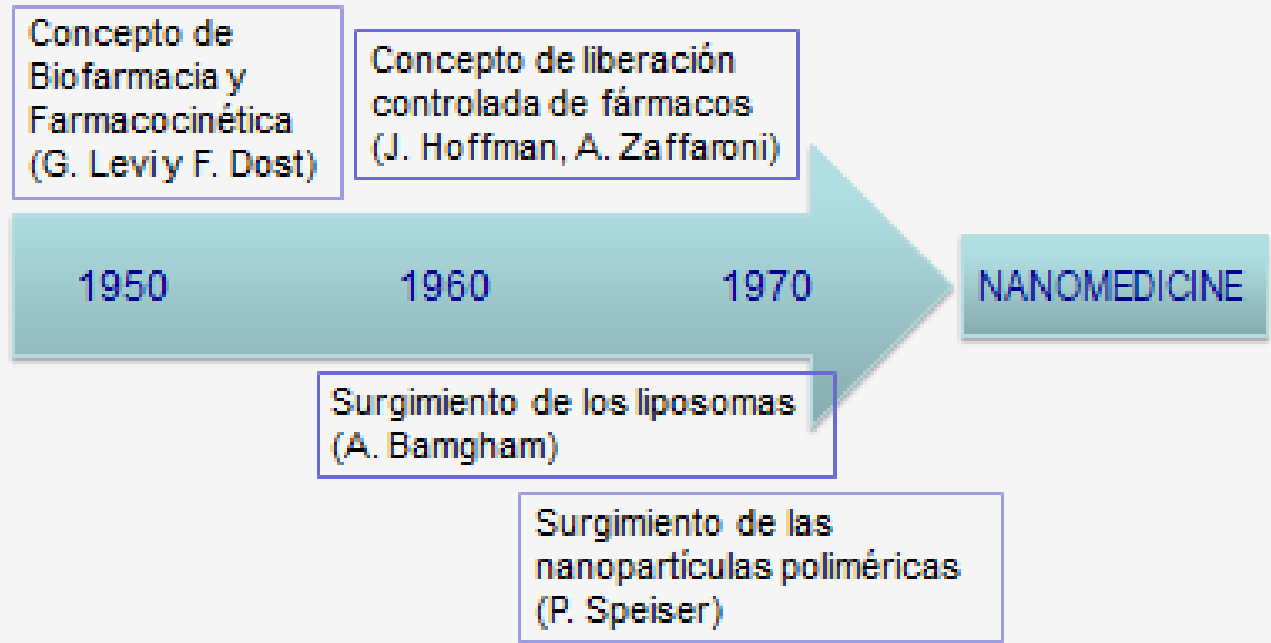
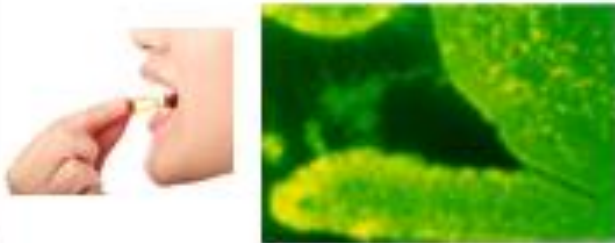


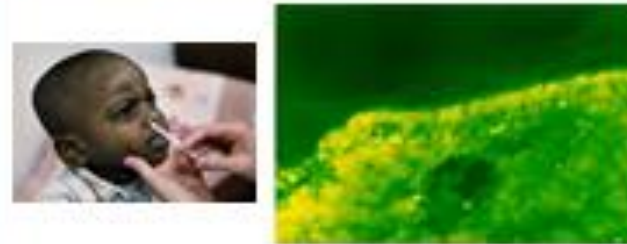
FIGURA 1

FIGURA 2

Tratamiento de la diabetes por vía oral: acceso de nanopartículas a células intestinales



Prevención de enfermedades: Nanovacunas nasales



Tratamiento de patologías oculares
Acceso de siRNA a células corneales



Tratamiento del cancer:
Acceso de fármaco a células tumorales y metastásicas

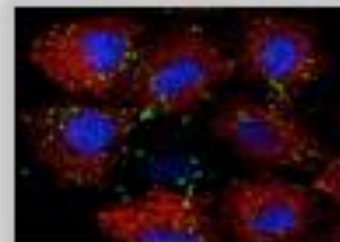


FIGURA 3

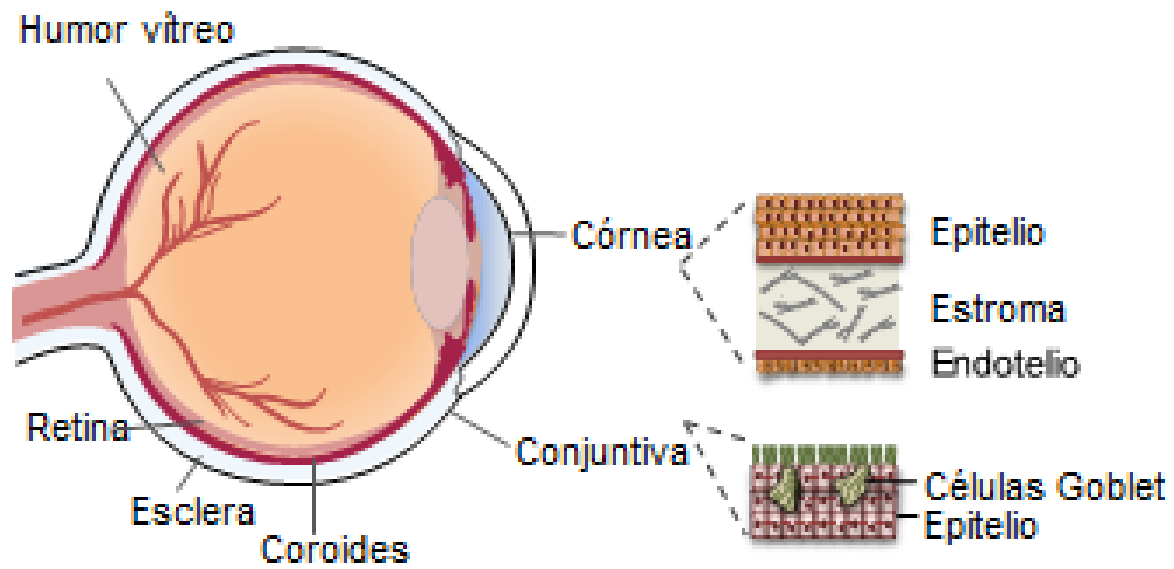


FIGURA 4

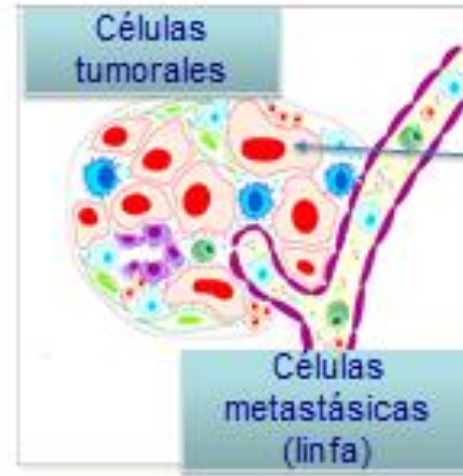
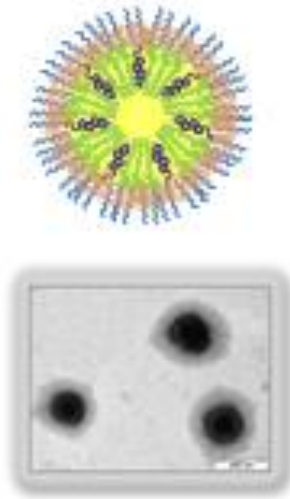


FIGURA 5

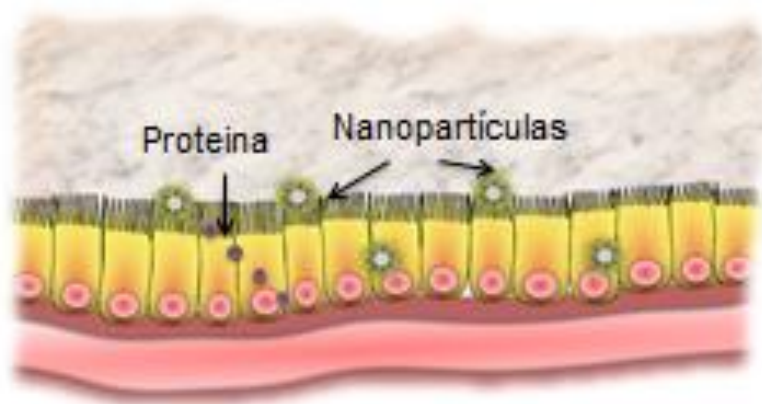


FIGURA 6

