

eman ta zabal zazu



Universidad
del País Vasco

Euskal Herriko
Unibertsitatea

FARMAZIA
FAKULTATEA
FACULTAD
DE FARMACIA

VESÍCULAS EXTRACELULARES: ¿UN FUTURO TRATAMIENTO PARA LA ENFERMEDAD DE PARKINSON?



ÁNGELA DÍAZ ÁLVAREZ

TRABAJO FIN DE GRADO

GRADO EN FARMACIA

2022-2023

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
2. OBJETIVOS	2
3. METODOLOGÍA	3
4. DESARROLLO	3
4.1 ENFERMEDAD DE PARKINSON	3
4.1.1 PREVALENCIA	3
4.1.2 CAUSAS	3
4.1.3 FISIOPATOLOGÍA DE LA ENFERMEDAD	4
4.1.4 SINTOMATOLOGÍA CLÍNICA	6
4.1.5 PROGRESO DE LA ENFERMEDAD	7
4.1.6 TRATAMIENTOS ACTUALES EN LA PRÁCTICA CLÍNICA Y SUS LIMITACIONES.....	9
4.2 VESÍCULAS EXTRACELULARES	11
4.2.1 CARACTERÍSTICAS GENERALES	11
4.2.2 FUNCIONES DE LAS VE EN EL SNC	13
4.3 VESÍCULAS EXTRACELULARES Y LA ENFERMEDAD DE PARKINSON	14
4.3.1 USOS DE LAS VE COMO BIOMARCADORES	14
4.3.2 USOS DE LAS VE COMO NUEVA ESTRATEGIA TERAPÉUTICA	17
4.4 FUTURO DE LAS VESÍCULAS EXTRACELULARES Y LA ENFERMEDAD DE PARKINSON	21
5. CONCLUSIONES	22
6. BIBLIOGRAFÍA	22

RESUMEN

La enfermedad de Parkinson (EP) es la segunda enfermedad neurodegenerativa más frecuente, detrás de la enfermedad del Alzheimer. Los tratamientos actualmente utilizados en la práctica clínica mejoran la sintomatología motora de la enfermedad, pero no son capaces de ralentizar el proceso neurodegenerativo subyacente de la misma. Del mismo modo, presentan dificultades para acceder al lugar de acción, el sistema nervioso central (SNC). Esto requiere investigar nuevos enfoques terapéuticos.

Las vesículas extracelulares (VE) podrían aportar nuevas alternativas, tanto a nivel del diagnóstico de las enfermedades neurodegenerativas, como en su tratamiento. Estudios actuales revelan que las VE están implicadas en la patología de estas enfermedades, pudiendo actuar como biomarcadores de la enfermedad. Por otro lado, las VE presentan un gran potencial en el tratamiento de la EP como transportadores de fármacos, proteínas o ARN (ácido ribonucleico), gracias a la capacidad de atravesar la barrera hematoencefálica (BHE). Por ese motivo, se espera que las VE puedan suponer un avance terapéutico al proporcionar un tratamiento con mayor precisión y eficacia.

En este trabajo se ha realizado una revisión bibliográfica sobre el gran potencial de las VE en el diagnóstico y tratamiento de la EP.

ABREVIATURAS

EP: Enfermedad de Parkinson

α -syn: α -sinucleína (*Alpha synuclein*)

MDS: *Movement disorder society*

SNC: Sistema nervioso central

BHE: Barrera hematoencefálica

VE: Vesículas extracelulares

ARN: Ácido ribonucleico

SNCA: gen que codifica la α -syn (*synuclein Alpha gen*)

LRRK2: quinasa 2 repetida rica en leucina (*Leucine-rich repeat kinase 2*)

PRKN: Parkina

MTPT: 1-metil-4-fenil,6-tetrahidropiridina (*1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine*)

LCR: Líquido cefalorraquídeo

ROS: Especies reactivas de oxígeno (*Reactive oxygen species*)

TNF α : Factor de necrosis tumoral (*tumor necrosis factor*)

IL-B: Interleucina-B

REM: Movimiento rápido de los ojos (*Rapid eyes movement*)

MDS-UPDRS: Escala unificada de la enfermedad del Parkinson modificada por la sociedad de trastornos de movimiento. (*Movement disorder society-Unified Parkinson's Disease Rating Scale*)

AADC: L-aminoácido aromática descarboxilasa

COMT: Catecol O-metiltransferasa

3-OM-DOPA: *3-O-Methyldopa*

DOPAC: *3,4-Dihydroxyphenylacetic acid*

IMAO-B: Inhibidor de la monoaminoxidasa B

NMDA: *N-metil-D-aspartato*

ISEV: *International Society of Extracellular Vesicles*

sEVs: *Small extracellular vesicles*

mEVs: *Medium extracellular vesicles*

IEVs: *Large extracellular vesicles*

ILVs: Vesículas intraluminales (Intraluminal vesicles)

MVB: Cuerpos multivesiculares (Multivesicular Body)

sMVB: Cuerpos multivesiculares secretores

dMVB: Cuerpos multivesiculares degradativos

miARN: Micro ARN

CT: Ciclo umbral

SiARN: ARN de silenciamiento (small interfering RNA)

RVG: Glicoproteína del virus de la rabia

ExoCAT: Exosomas cargados con catalasa

PBS: *Phosphate buffered saline*

PR-EXO/PP@cur: Exosomas derivados de las células mesenquimales que presentan en su superficie el péptido P y el RVG y están cargados con curcumina.

PR-EXO: Exosomas con péptido P y RVG en su superficie

SPION: Nanopartículas supermagnéticas de óxido de hierro (Superparamagnetic iron oxide nanoparticles)

PP@Cur: Curcumina encapsulado en un polímero y partículas SPION

PR-EXO/PP@Cur (L): Exosomas derivados de las células mesenquimales que presentan en su superficie el péptido P y el RVG y están cargados con curcumina, administrados una vez al día.

1. INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Parkinson (EP) es una enfermedad neurodegenerativa que se caracteriza por una depleción de las neuronas dopaminérgicas de la sustancia negra *pars compacta* y la presencia de cuerpos de Lewy formados por agregados insolubles de la proteína α -sinucleína (α -syn), generando una pérdida de la función motora (1).

Clínicamente, las personas que padecen esta enfermedad presentan una serie de síntomas motores, conocidos como los síntomas cardinales de la EP. Entre ellos, se encuentran la bradicinesia, la rigidez, el temblor en reposo, así como la inestabilidad postural. Sin embargo, también cursa con síntomas no motores como alteraciones olfatorias, estreñimiento, deterioro cognitivo y/o alteraciones del sueño, entre otros.

El diagnóstico de sospecha es puramente sintomático, ya que no se dispone de biomarcadores específicos. Éste se realiza a través de una anamnesis y exploración neurológica, mientras que la confirmación del diagnóstico se obtiene con una evaluación *postmortem*. Según el *Movement Disorder Society* (MDS), los criterios de diagnóstico se basan en la aparición de los síntomas cardinales, comentados anteriormente, que caracterizan al parkinsonismo, y en definir con el resto de los criterios establecidos si el parkinsonismo se debe a la EP o a una causa secundaria, como ocurre tras la exposición a algunas sustancias neurotóxicas como el paraquat (2).

Con respecto al tratamiento, los principales fármacos utilizados en la práctica clínica tienen como objetivo tratar los síntomas motores, actuando sobre el sistema dopaminérgico. Entre estos tratamientos, el fármaco utilizado por excelencia es la levodopa. Sin embargo, como también aparecen síntomas no motores se utilizan otros tratamientos, como es la rivastigmina, utilizada para tratar la demencia, o la domperidona, para náuseas y vómitos. En la **figura 1** se muestran los principales fármacos utilizados en el tratamiento de la EP en función de los síntomas que se deseen tratar (3).

Síntomas Motores <ul style="list-style-type: none">• Levodopa /Carbidopa• Apomorfina• Pramipexol• Rotigotina• Ropirinol• Biperideno	Discinesias <ul style="list-style-type: none">• Amantidina	Insomnio <ul style="list-style-type: none">• Melatonina• Clonazepam o Zoldipem
	Demencia <ul style="list-style-type: none">• Rivastigmina	Depresión/Ansiedad <ul style="list-style-type: none">• Fluoxetina• Vanflosetina
Psicosis <ul style="list-style-type: none">• Clozapina• Quetiapina	Náuseas y vómitos <ul style="list-style-type: none">• Domperidona	

Figura 1: Principales tratamientos farmacológicos de la EP adaptada de la referencia (1).

No obstante, las terapias actuales presentan únicamente efectos sintomatológicos, y se centran en la mejora de la calidad de vida de los pacientes, sin abordar el proceso neurodegenerativo subyacente. Además, la dificultad de acceso de los fármacos al sistema nervioso central (SNC) y la amplitud de efectos adversos que muchos generan, conlleva a la búsqueda de nuevas posibilidades terapéuticas (3).

El uso de la nanomedicina puede suponer un avance para mejorar el acceso de los fármacos al SNC y así potenciar el efecto de los mismos. Algunos ejemplos de nanopartículas que pueden ser utilizadas para superar la barrera hematoencefálica (BHE) son los liposomas o las nanopartículas poliméricas o lipídicas. Sin embargo, las vesículas extracelulares (VE) podrían presentar diversas ventajas respecto a los otros sistemas (4).

Las VE son un grupo heterogéneo de estructuras membranosas formadas a partir de la membrana plasmática y/o endosomas. Son liberadas por diferentes células, incluidas las neuronales. Estas partículas extracelulares participan en el intercambio de información celular, portando lípidos, proteínas, ARN (ácido ribonucleico), etc. Además, son vesículas endógenas que presentan baja inmunogenicidad y toxicidad, y son capaces de evadir el sistema inmune. Por otra parte, como se indicará más adelante, tienen una capacidad propia de focalización y gran habilidad para atravesar la BHE, lo que permitirá transportar moléculas de manera más específica. Así, se postulan como futuros biomarcadores de la enfermedad y vehículos de fármacos, abriendo nuevas posibilidades terapéuticas (4) (5).

2. OBJETIVOS

La incidencia de la EP muestra una tendencia de crecimiento a lo largo de los años y se espera que siga haciéndolo en el futuro. Los actuales tratamientos tienen diversas limitaciones y sus efectos son estrictamente sintomatológicos. Además, tampoco se dispone de biomarcadores que faciliten el diagnóstico, siendo éste puramente sintomático. Por ello, es necesario buscar nuevas líneas diagnósticas y terapéuticas.

Esta revisión bibliográfica tiene como objetivo explicar las posibilidades que pueden ofrecer las VE en el diagnóstico y tratamiento del Parkinson. Para ello, primero se explicará la fisiopatología de la enfermedad y las limitaciones de los actuales tratamientos. A continuación, se definirán las VE, así como sus características, tipos y funciones. Por último, y como objetivo principal, se analizará el potencial de las VE como biomarcadores de la enfermedad y su función como posibles vehículos para tratamientos farmacológicos.

3. METODOLOGÍA

Para realizar esta revisión bibliográfica se recopiló información en bases de datos como Pubmed o Cochrane, así como fuentes especializadas en la EP. Para ello las palabras claves utilizadas y sus combinaciones han sido: “*Parkinson’s disease and extracellular vesicles*”; “*Extracellular vesicles and biomarkers*” y “*exosomes and neurodegenerative diseases*”. También han sido utilizadas “*Parkinson disease and diagnosis*” y “*Parkinson disease and treatment.*”

4. DESARROLLO

4.1 ENFERMEDAD DE PARKINSON

4.1.1 PREVALENCIA

A nivel mundial, la prevalencia de la EP ha ido creciendo rápidamente en los últimos años, incluso más que en el resto de las enfermedades neurodegenerativas, y se cree que seguirá aumentando conforme la esperanza de vida de la sociedad lo haga. Según las estimaciones, en el año 2019 más de 8 millones de personas padecían la enfermedad.

Aunque la edad es un factor de riesgo, alrededor del 1% de la población mayor de 60 años la padece, también puede afectar a los jóvenes y su incidencia es mayor en hombres que en mujeres. Sin embargo, ellas tienen más riesgo de sufrir discinesias y fluctuaciones debido al menor peso corporal. Por el momento no se conocen con exactitud las causas de la EP, pero se cree que se trata de una enfermedad multifactorial (1) (3) (6).

4.1.2 CAUSAS

Los principales factores de riesgo de la enfermedad son la edad, la predisposición genética y los factores ambientales a los que estamos expuestos. De manera general, podemos diferenciar dos tipos de Parkinson: el esporádico o el familiar/genético.

Desde el punto de vista clínico, el estudio de las mutaciones genéticas puede facilitar el diagnóstico, sobre todo a edades tempranas. Los genes más estudiados son el SNCA (gen que codifica la α -syn) y los que codifican a la LRRK2 (quinasa de tipo 2 rica en repeticiones de leucina) y a la PRKN (parkina). Estos se encargan de la síntesis correcta de la α -syn y de su degradación (3).

Factores ambientales como altos niveles de manganeso, uso de pesticidas similares al paraquat o sustancias neurotóxicas como el MTPT (de sus siglas inglés *1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine*) pueden producir parkinsonismo secundario. Éste se diferencia de la EP por presentar un inicio rápido de los síntomas motores y una falta de eficacia del

tratamiento con levodopa. Se cree que los microorganismos, como virus o bacterias, también pueden desencadenar la enfermedad. Asimismo, los traumatismos cerebrales graves parecen suponer un factor de riesgo no genético importante (7).

Por el contrario, se considera que la cafeína, algunos antiinflamatorios y el ejercicio físico puede tener un efecto protector de la enfermedad, aunque se desconoce el mecanismo de acción (3) (8).

4.1.3 FISIOPATOLOGÍA DE LA ENFERMEDAD

La EP es causada por una disfunción de los ganglios basales desencadenada por una degeneración de las neuronas dopaminérgicas de la sustancia negra *pars compacta* y a la aparición de cuerpos de Lewy, los cuales están formados principalmente por la forma insoluble de la proteína α -syn (9).

La α -syn es una proteína formada por 140 aminoácidos y codificada por el gen SNCA. Principalmente se encuentra en el cerebro en las terminaciones nerviosas presinápticas, aunque pueden aparecer en las células gliales, líquido cefalorraquídeo (LCR), sangre, etc. Esta proteína parece participar en el tráfico de vesículas sinápticas, aunque no se conoce con exactitud su función (10).

El proceso de degradación de la α -syn se lleva a cabo a través de la ubiquitinación y autofagia, regulados por PRKN y LRRK2, respectivamente. Si se encuentran alterados los genes que codifican estas proteínas, la α -syn insoluble no se degradará y se formarán agregados, generando los cuerpos de Lewy. Estos, al acumularse, darán lugar a tres procesos: alteración del complejo 1 mitocondrial, excitotoxicidad y neuroinflamación. Como resultado, se produce la muerte neuronal. Este proceso se muestra en la **figura 2** (9).

La acumulación en la mitocondria de α -syn plegada de manera deficiente da lugar a una carencia del complejo mitocondrial 1, el cual forma parte de la cadena de transporte de electrones. Esta disfunción mitocondrial genera ROS (*reactive oxygen species*), causando estrés oxidativo. Las neuronas dopaminérgicas son particularmente vulnerables a sus efectos porque poseen largos axones sin vainas de mielina y además presentan numerosas sinapsis, lo que supone un gran gasto energético. Igualmente, la disfunción mitocondrial da lugar a una acumulación citosólica de dopamina y a la generación de estrés oxidativo, dando lugar a un fallo en la proteostasis de la α -syn (11).

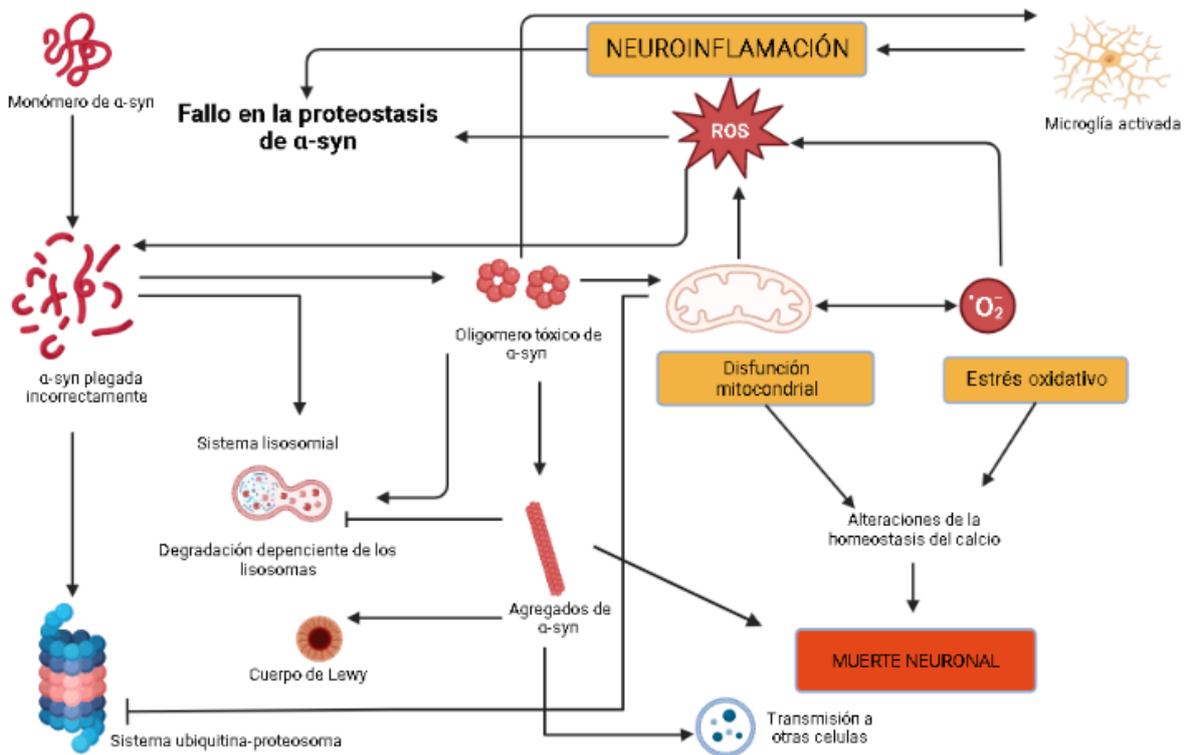


Figura 2: Esquema de los mecanismos moleculares que participan en la EP. Imagen de elaboración propia a partir de la referencia (11).

Estudios realizados en cerebros *postmortem* de pacientes con EP muestran una neuroinflamación, contribuyendo en gran parte a la propagación de la enfermedad. La respuesta inflamatoria del SNC está modulada por los astrocitos y la microglía, los cuales forman parte de las células gliales y, según el estado patológico, pueden producir un efecto neurotóxico o neuroprotector. A lo largo de la EP, la α -syn mal plegada produce una activación de la microglía, la cual libera citoquinas proinflamatorias como TNF- α (de sus siglas en inglés *tumor necrosis factor*) y IL-1 β (de sus siglas en inglés *interleukin 1 β*). En algunos pacientes también se han encontrado astrocitos reactivos en la sustancia negra *pars compacta*, estando involucrados genes, como LRRK2 o PARK7, que participan en su autofagia y activación. Paralelamente, las neuronas dopaminérgicas de los pacientes con EP presentan proteínas del complejo de histocompatibilidad I, estando expuestas a la citotoxicidad generada por los linfocitos T en presencia de un antígeno. En esta situación, la α -syn puede actuar como un antígeno y desencadenar la neuroinflamación (8) (11).

Estos procesos descritos dan lugar a una depleción de las neuronas dopaminérgicas, principalmente en la sustancia negra *pars compacta* que se encarga de la producción de dopamina. Debido a la disminución de los niveles de dopamina se produce un desajuste de las señales motoras desde los ganglios basales, los cuales están conectados con el tálamo, corteza cerebral, tronco del encéfalo y médula espinal, así como otras áreas corticales no

motoras que también se ven afectadas. En base a esto, surge la teoría de Braak (2003) formulada por Heiko Braak, que propone que los agregados de α -syn pueden ser transmitidos por un mecanismo “tipo prion” e intenta explicar la progresión de la sintomatología a lo largo de los años (9) (11).

Braak et al, postulan que los primeros lugares donde se produce la agregación de la α -syn son los nervios entéricos intestinales y que estos agregados pueden ser transportados, a través del nervio vago, al SNC. Es decir, la enfermedad se instaura en el sistema nervioso entérico y progresa en sentido ascendente y es, con el paso de los años, cuando se ve afectado el cerebro. Esto podría explicar los síntomas observados durante la fase prodrómica, como es el estreñimiento, el cual aparece años antes de observarse los síntomas motores. Se cree que, si el comienzo de la enfermedad se produce en la sustancia negra, se debe a una causa genética, mientras que, si la enfermedad empieza en los nervios entéricos intestinales, se debe a otros factores que produzcan un cambio en la microbiota intestinal (11).

Siguiendo esta teoría, uno de los factores de riesgo, como es la edad, supone un deterioro del sistema inmune y una mayor inflamación, generando una mayor susceptibilidad a factores externos (dieta, pesticidas, virus, etc.). Cuando la microbiota intestinal se ve afectada por cualquiera de estos factores, se produce una inflamación a este nivel y un aumento de citoquinas proinflamatorias, activando el sistema inmune, tanto la respuesta innata como adaptativa. Debido a este desequilibrio de la microbiota intestinal y la activación del sistema inmune, se da comienzo a un plegamiento incorrecto de la proteína y a un aumento de ROS. A su vez, la respuesta inflamatoria generada va a producir un cambio en la permeabilidad de la BHE, y las células del sistema inmune periférico acceden al SNC y producen una activación de la microglía, generando neuroinflamación (12).

Como resultado, en la EP, el paciente presenta una serie de síntomas motores característicos de la enfermedad y síntomas no motores que condicionan la calidad de vida de quien la sufre.

4.1.4 SINTOMATOLOGÍA CLÍNICA

Los síntomas cardinales de la EP son bradicinesia, definida como lentitud de movimiento, rigidez, temblor en reposo e inestabilidad postural. La rigidez se manifiesta como un resistencia al movimiento pasivo de la articulación y es de tipo rueda dentada. El temblor en reposo presenta una frecuencia de 4-6 Hz y se localiza principalmente en los miembros superiores. Estos síntomas aparecen cuando hay una pérdida del 80% de las neuronas dopaminérgicas de la sustancia negra y resultan en unas características inconfundibles en los pacientes con EP. Presentan la cabeza y el cuerpo levemente inclinados, y los codos y rodillas

flexionados. Además, es común que aparezca inexpressión facial, conocida como “máscara facial”, y verlos con las manos entrelazadas debido al temblor. Conforme avanza la enfermedad, el lenguaje y la escritura también se ven perjudicados (2) (9).

Según se ha ido estudiando y conociendo más la enfermedad, se ha visto que los síntomas no motores como depresión, deterioro cognitivo o disfunción del sistema autónomo (sialorrea, disfunción sexual, estreñimiento...) condicionan en gran medida a los afectados. Estos síntomas se relacionan con la teoría de Braak y la transmisión de los cuerpos de Lewy a través del sistema límbico, bulbo olfatorio, tronco del encéfalo, etc. Además, su aparición no está tan relacionada con los niveles de dopamina, como ocurre con los sistemas motores, sino que están implicados otros neurotransmisores como la acetilcolina, serotonina, etc. Es por ello que, como explicaremos en el punto 4.1.6 del presente trabajo, disponemos de tratamientos farmacológicos que actúan sobre estos sistemas (1).

4.1.5 PROGRESO DE LA ENFERMEDAD

Se diferencian distintas fases en la EP en función de la sintomatología presente (**figura 3**). Los síntomas no motores específicos, como el estreñimiento o trastorno de la conducta del sueño, son los primeros en aparecer y corresponden a la fase prodrómica, la cual puede durar años. El trastorno de la conducta del sueño se produce por una alteración de la fase REM (*Rapid Eyes Movement*) y se relaciona con un mayor riesgo de desarrollar EP (11).

El agravamiento de los síntomas no motores y la aparición de los síntomas cardinales dan lugar a la etapa inicial de la EP, y es en ese momento cuando se realiza el diagnóstico clínico. Posteriormente, aparece la fase intermedia caracterizada por los efectos adversos propios del tratamiento con levodopa, el fármaco más utilizado en la EP. En la fase final aparecen síntomas como inestabilidad postural, demencia, caídas y, finalmente, la muerte (11).

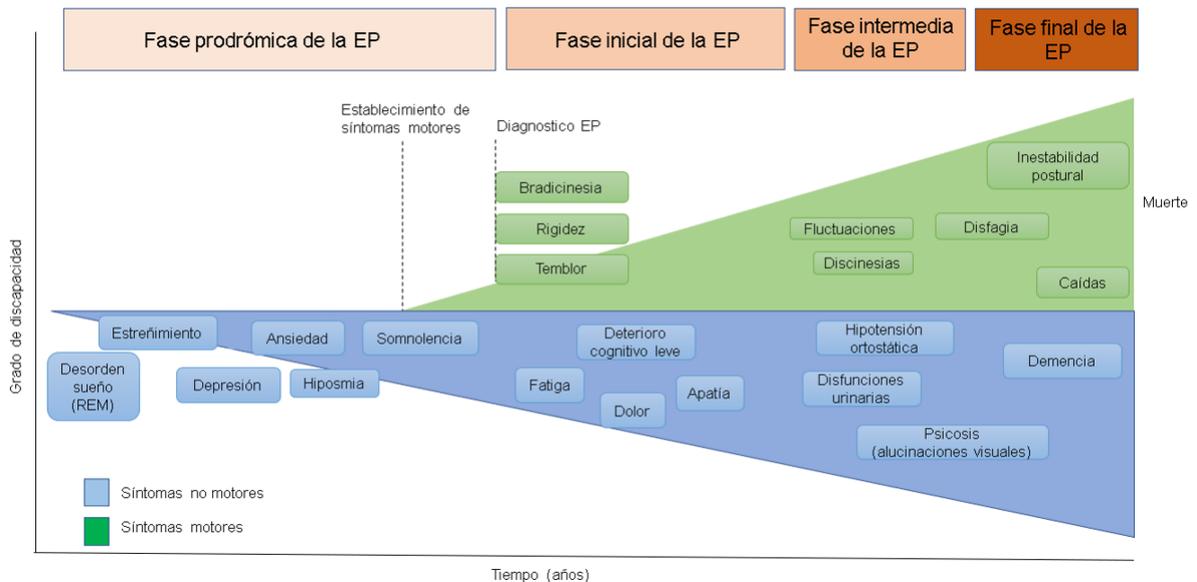


Figura 3: Etapas de la EP y orden de aparición de los síntomas. Imagen de elaboración propia creada a partir de la referencia (11).

Para realizar un seguimiento clínico sobre la evolución de la EP, disponemos de diferentes escalas. Las dos más utilizadas son: la escala unificada de la EP modificada por la sociedad de trastornos de movimiento (MDS-UPDRS) y la descrita por Hoehn y Yahr. Ésta última es una escala descriptiva utilizada en los estudios, que clasifica en cinco estadios diferentes la EP según la incapacidad motora generada (13) (14).

Sin embargo, la MDS-UPDRS tiene en cuenta también los síntomas no motores, y por ese motivo se ha propuesto como escala de referencia para evaluar el progreso de los pacientes con EP. Se mide a través de un cuestionario realizado a los pacientes, cuyos criterios se dividen en cuatro bloques: I) aspectos no motores de la vida cotidiana (deterioro cognitivo, estreñimiento, etc.), II) aspectos motores de la vida cotidiana (hablar, comer, caminar), III) examen motor como pueden ser rigidez, estabilidad postural, etc., y IV) complicaciones motoras como son las fluctuaciones. El evaluador otorga una puntuación del uno al cuatro, de menos a más severo, en cada una de las partes, y finalmente se obtiene la puntuación final. (13) (14).

En función de los síntomas y la etapa de la enfermedad en la que se encuentren los pacientes, se instaurará el tratamiento adecuado.

4.1.6 TRATAMIENTOS ACTUALES EN LA PRÁCTICA CLÍNICA Y SUS LIMITACIONES

En función del estadio de la enfermedad, la severidad de los síntomas y la evolución de la EP, se determina el tipo de tratamiento, estando disponibles tres tipos de procedimientos: no farmacológicos (ejercicio físico, apoyo psicológico...), farmacológicos y, por último, quirúrgico mediante estimulación subtalámica. El tratamiento farmacológico se basa principalmente en la vía dopaminérgica, con el objetivo de actuar sobre los síntomas motores (**figura 4**), pero también se dispone de fármacos que actúan sobre el sistema colinérgico, glutamatérgico, serotoninérgico y noradrenérgico (3).

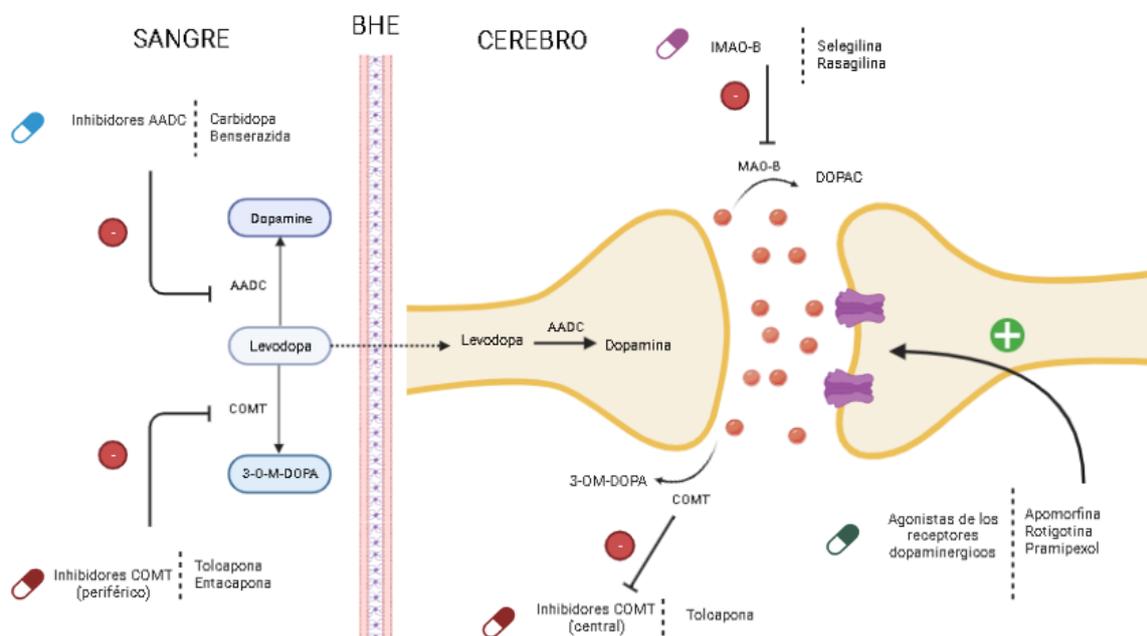


Figura 4: Fármacos que actúan sobre el sistema dopaminérgico en la EP. AADC: L-aminoácido aromático descarboxilasa; COMT: catecol O-metiltransferasa; DOPAC: metabolito de la dopamina (del inglés *3,4-Dihydroxyphenylacetic acid*) IMAO-B: Inhibidores de la monoaminoxidasa-B; 3-OM-DOPA: metabolito de levodopa (del inglés *3-O-Methyldopa*) Imagen de elaboración propia creada a partir de la referencia (11).

La levodopa es el principal fármaco utilizado y es el más eficaz en la terapia de los síntomas motores. Es capaz de atravesar la BHE y actúa como precursor de dopamina, al ser sustrato de la L-aminoácido aromático descarboxilasa (AADC). El problema que presenta es la capacidad de metabolizarse antes de atravesar la BHE y dar lugar a la dopamina, la cual es incapaz de acceder al cerebro y puede generar efectos adversos a nivel periférico, como son náuseas, hipotensión ortostática, etc. Por ese motivo, junto a la levodopa es necesario administrar carbidopa, un inhibidor de la AADC.

Aunque la levodopa es el tratamiento actual más eficaz, a lo largo del tiempo, cuanto más desarrollada este la enfermedad, va perdiendo eficacia y los efectos adversos van aumentando (hipersexualidad, psicosis, insomnio, etc.). No obstante, sus principales efectos adversos son motores, produciendo discinesias (movimientos involuntarios) o fluctuaciones; donde el paciente nota un empeoramiento de los síntomas tanto motores como no motores, y se le conoce como el fenómeno “*wearing off*”. Se produce cuando los niveles de levodopa son bajos y está relacionado con el tiempo que se lleva bajo el tratamiento. Las discinesias, por su parte, se producen generalmente a dosis altas de levodopa. (7) (15).

En un inicio, se administran 3 dosis al día del fármaco, generalmente en forma de comprimidos orales. Sin embargo, dado que el tratamiento no es curativo, la degeneración de las neuronas dopaminérgicas de la sustancia negra continua durante el tratamiento, por lo que la levodopa no se puede metabolizar en forma de dopamina. Por ese motivo, son necesarias mayores dosis y frecuencia de administración durante el tratamiento. Además, la ventana terapéutica es cada vez más pequeña, como se refleja en la **figura 5**. (15) (16).

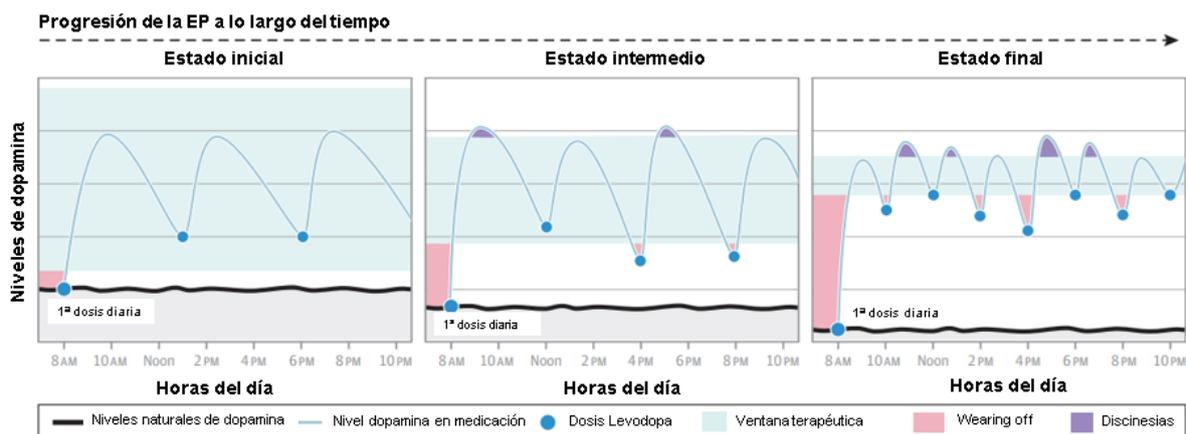


Figura 5: Representación de los niveles de dopamina y levodopa durante el tratamiento. Conforme progresa la enfermedad la dosis y frecuencia de administración es mayor. Imagen adaptada de la referencia (15).

Otros tratamientos farmacológicos disponibles son los agonistas dopaminérgicos, como la apomorfina o rotigotina, que presentan menor eficacia sobre los síntomas motores, pero están asociados a menores efectos adversos que la levodopa. Por ese motivo, se utilizan en estadios leves de la enfermedad. Aun así, generan náuseas, vómitos y alteraciones neuropsiquiátricas.

Los IMAO-B (inhibidores de la monoaminoxidasa B), como la selegilina, aumentan de manera indirecta los niveles de dopamina al inhibir su metabolismo. Son utilizados en la EP inicial o en combinación con levodopa en casos más avanzados. Durante su utilización, se

debe tener especial control sobre las posibles reacciones adversas que puedan generar alimentos que contengan tiramina (7).

También se utilizan antagonistas muscarínicos, como es el biperideno, que actúan principalmente sobre el temblor. Sin embargo, parecen tener efectos sobre la función cognitiva. Por su parte, la amantadina es un antagonista de los receptores NMDA (N-metil-D-aspartato) y presenta acción anticolinérgica. Es utilizada para reducir los efectos motores generados por la levodopa, como las discinesias (1) (7).

Para conseguir un tratamiento óptimo de la EP, se deberían tener en cuenta la eficacia, seguridad y coste. Si hacemos una visión general sobre las terapias actuales, observamos que la eficacia de los tratamientos se ve comprometida, careciendo de una acción neuroprotectora sobre el progreso de la enfermedad. Además, la eficacia de los fármacos actuales depende del estadio y del daño producido por la EP. También carecen de especificidad, afectando a otras áreas y generando ciertos efectos indeseados que pueden condicionar la seguridad del tratamiento. Igualmente, cabe destacar la dificultad de acceso de los fármacos al SNC debido a tres barreras principales: la BHE, el paso a través de la membrana celular y, por último, la membrana endosomal/lisosomal (17).

Por estos motivos, surge la necesidad de buscar tratamientos alternativos. Actualmente, se ha puesto interés sobre las VE gracias a su participación en el intercambio de información de célula a célula y a la posibilidad de atravesar la BHE de manera bidireccional, permitiendo un mejor acceso de los fármacos al lugar de acción.

4.2 VESÍCULAS EXTRACELULARES

4.2.1 CARACTERÍSTICAS GENERALES

Recientemente, la ISEV (*International Society for Extracellular Vesicles*) ha utilizado el término VE para referirse a las partículas liberadas de manera natural por la células, que presentan una doble capa lipídica y que no son capaces de replicarse, al carecer de núcleo. Por lo general, se utilizan los términos “exosomas” para hacer referencia a las partículas que son liberadas desde los endosomas, y el término “microvesículas” o “ectosomas” para referirse a las VE que proceden de la membrana plasmática de las células. Debido a la falta de consenso en la determinación de los biomarcadores específicos de cada subtipo de VE, la ISEV no considera los términos exosomas y microvesículas como correctos, a menos que mediante técnicas de imagen se conozca con exactitud la vía de liberación. Además, en caso de utilizar estos términos, siempre han de estar definidos de forma clara (18).

La ISEV establece una clasificación de las VE en base a 3 criterios: a) características fisiológicas como el tamaño, donde diferenciamos en pequeñas (<100nm o <200nm) (sEVs - *small extracellular vesicles*), medianas (mEVs - *médium extracellular vesicles*) y/o grandes (>200nm) (IEVs - *large extracellular vesicles*); b) composición bioquímica; y c) células de origen, como son VE de podocitos, cuerpos apoptóticos, etc. (18).

Las VE son entonces partículas liberadas al espacio extracelular por diversos tipos de células, incluyendo aquellas que forman parte del SNC, y se pueden encontrar en distintos fluidos corporales como la saliva, orina, plasma, LCR, etc. Además, presentan biomarcadores que nos permiten diferenciarlas de otras partículas. Podemos encontrar, entre otros, tetraspaninas como son CD63 y CD81, que son proteínas transmembrana claves en la unión a las células, o proteínas de la familia Rab, que participan también en la liberación de las VE. También presentan en su membrana colesterol, esfingolípidos y ceramidas (18) (19).

Aunque la ISEV no considera correcto utilizar el término exosoma, en la actualidad, son las VE más estudiadas y la mayoría de los autores se refieren a ellos al estudiar las VE. Los exosomas son vesículas intraluminales (ILVs) liberados desde el sistema endosomal y, por lo general, se considera que son de menor tamaño que las microvesículas, entre 30-150 nm. Se forman a partir de los endosomas tardíos que captan biomoléculas del citoplasma y forman las ILVs por gemación hacia el interior de la membrana endosomal, dentro de los cuerpos multivesiculares (MVB). A su vez, los MVB pueden seguir dos vías: una vía degradativa o una vía excretora. Por un lado, la vía degradativa se produce a través de los cuerpos multivesiculares degradativos (dMVB) que se dirigen a los lisosomas y, por otro lado, se forman los cuerpos multivesiculares secretores (sMVB) que liberan, mediante fusión con la membrana plasmática, las ILVs al espacio extracelular como exosomas. La **figura 6** muestra el proceso de creación y excreción de los exosomas (19).

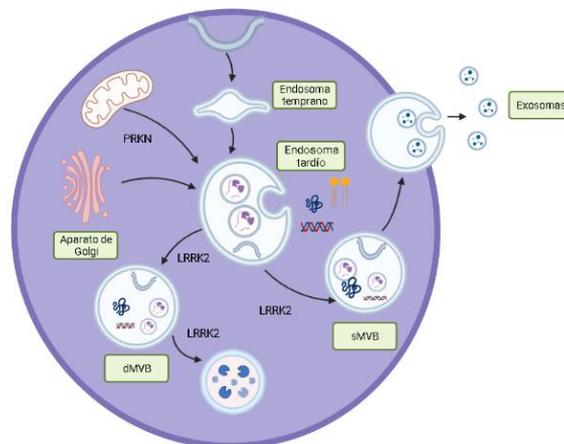


Figura 6: Esquema de la formación de exosomas a nivel celular. Figura creada a partir de la referencia (19).

Las microvesículas, en cambio, provienen de la membrana plasmática y son liberadas durante un proceso de estrés celular. Sin embargo, la falta de evidencia científica y la dificultad de su detección en los fluidos biológicos, así como la ausencia de biomarcadores específicos, no nos permite aislar este tipo de VE con la suficiente pureza. Cabe destacar que, en muchos estudios, aunque se hayan realizado los procesos de caracterización, se refieren a los exosomas para hablar de todas las VE de manera general, aunque pueden aparecer pequeñas cantidades de otras VE que no se hayan podido aislar (20).

4.2.2 FUNCIONES DE LAS VE EN EL SNC

Los primeros en describir las VE fueron Pan y Johnstone en el año 1983, e inicialmente se consideraba que eran productos de deshecho de las células. Con los años, y gracias a las investigaciones que se han realizado, se sabe que juegan un papel importante en la biología celular de manera general, y en el SNC de manera particular.

Entre sus funciones, la acción más destacable es el intercambio de información célula-célula, aunque también participan en la presentación de antígenos, la regeneración de axones dañados, intercambio de información genética, etc. Además, en función de las células de origen, las VE tendrán un destino distinto. Por ejemplo, las que son liberadas por los oligodendrocitos se dirigen preferiblemente a las neuronas y a la microglía, mientras que las que son liberadas por las neuronas corticales no suelen dirigirse a la neuroglia. Una característica a destacar de las VE es su capacidad de compartir información dentro y fuera del SNC, ya que son capaces de atravesar la BHE de manera bidireccional. También regulan la fagocitosis a nivel de la microglía y participan regulando la neuroplasticidad (19).

En los últimos años, y en relación con la teoría de Braak, se han relacionado las VE con el progreso de la EP al participar portando α -syn insoluble y citoquinas proinflamatorias, como el TNF α o IL-1 β , dando lugar a la neuroinflamación y agravando la situación degenerativa existente. Además, pueden ser liberadas desde el sistema inmunológico periférico y causar neuroinflamación en el SNC al atravesar la BHE (21).

Los exosomas también participan en la EP transportando material genético implicado en la patología de la enfermedad. Los micro ARN (miARN) son pequeñas moléculas de ARN que regulan la expresión génica. Se encuentran en grandes cantidades en las VE y, dependiendo de la condición patológica, sus niveles pueden ser modificados. Además, participan regulando vías importantes de la enfermedad, como es el estrés oxidativo, la agregación y la autofagia. Este intercambio de información genética puede producir mutaciones en genes como el de LRRK2, PARK, etc. (5).

Se considera que las VE participan en la EP de manera multifuncional debido a su contribución en el desarrollo de la enfermedad, la capacidad de ser detectados en los distintos fluidos biológicos y las variaciones de su composición en función el estado fisiológico. Por lo tanto, pueden actuar como biomarcadores de la enfermedad. Además, presentan proteínas en su superficie que actúan como biomarcadores propios, facilitando así su identificación. Esto supone un gran avance, puesto que actualmente el diagnóstico es puramente sintomatológico y se produce cuando aparecen los síntomas cardinales de la enfermedad, lo que dificulta aún más el tratamiento (11).

4.3 VESÍCULAS EXTRACELULARES Y LA ENFERMEDAD DE PARKINSON

4.3.1 USOS DE LAS VE COMO BIOMARCADORES

En los últimos años, se han realizado diversos estudios para analizar el contenido de las VE presentes en diferentes fluidos biológicos, con el fin de identificar biomarcadores específicos de la enfermedad.

El LCR podría ser un fluido biológico ideal gracias a su proximidad con el SNC, sin embargo, se necesita realizar una técnica invasiva para su obtención. Las primeras investigaciones realizadas en este fluido se basaron en medir concentraciones de α -syn directamente del LCR, pero los resultados no fueron satisfactorios. Posteriormente, se aislaron VE del LCR de pacientes con EP y se observó que las concentraciones de α -syn plegada de manera deficiente eran diferentes entre los pacientes y los voluntarios sanos. Además, se identificaron distintos tamaños y morfologías de VE, reflejando la participación de distintas subpoblaciones (21) (22).

El plasma, al ser una técnica de extracción menos invasiva, ha sido el fluido biológico más utilizado para estudiar el contenido de las VE. En la mayoría de los casos se observó un aumento de la α -syn mal plegada en pacientes con EP respecto a los controles sanos. Además, se encontraron diferencias en los biomarcadores de la superficie de las VE (21) (22).

Por otra parte, los miARN también forman parte de la carga de las VE y sus niveles varían en función de la condición fisiológica de la persona. Uno de los estudios realizados tenía como objetivo determinar la expresión del mir 34a-5p en las diferentes poblaciones de las VE aisladas del plasma de pacientes con EP. Se eligió el miR-34a-5p debido a su papel en el neurodesarrollo, participando en la neurogénesis, diferenciación neuronal y envejecimiento cerebral, entre otros. Para poder diferenciar las diferentes subpoblaciones de VE del plasma, se realizaron SDS PAGE y WESTERN BLOT, y posteriormente se utilizó la microscopia de fuerza atómica. Finalmente, el ARN se analizó a través de PCR cuantitativa. En este estudio,

se escogieron hombres con EP descritos a través de las escalas UPDRS y los estadios de Hoehn y Yahr.

Los resultados indicaron que los niveles de miARN-34a-5p estaban ligeramente aumentados en las VE más pequeñas de pacientes con EP frente a controles sanos. En la **figura 7** se indican los datos obtenidos en función del ciclo umbral, el cual es inversamente proporcional a la concentración de ARN de la muestra. Los niveles de este miARN solo se diferenciaron en sVEs puras y no el resto de las subpoblaciones. Esto sugiere que en investigaciones futuras es necesario tener en cuenta los distintos tipos de EV para poder analizar las diferencias de los niveles de miARN. Para ello, es muy importante determinar un protocolo de aislamiento de las VE y realizar más estudios para verificar el potencial de diagnóstico del miARN-34a-5p, así como la búsqueda de otros posibles biomarcadores dentro del repertorio miARN descrito para el EP (23).

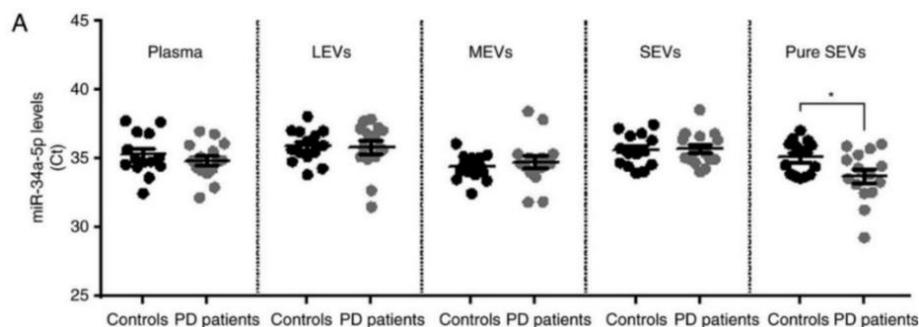


Figura 7: Niveles de miARN-34a-5p en diferentes poblaciones de VE en plasma. Los datos están indicados en función del ciclo umbral (CT). El ciclo umbral otorga un valor semicuantitativo inversamente relacionado con la cantidad de ARN de las muestras. (23).

Actualmente se está realizando un estudio observacional de tipo caso-control para estudiar las VE presentes en la saliva de pacientes que padecen la EP, otros que presentan parkinsonismo secundario y en sujetos sanos. En este caso, se analiza la saliva por ser un fluido corporal con un proceso de obtención poco invasivo y que además comparte moléculas, como proteínas, ácidos nucleicos, etc., con la sangre y el LCR. Para analizar los componentes de la saliva se está utilizando la espectroscopia Raman, más rápida y exacta que las metodologías utilizadas hasta ahora. Los datos preliminares prueban que el análisis de la saliva a través de esta técnica puede diferenciar a los pacientes con EP con una sensibilidad y especificidad de 90 y 94%, respectivamente.

Por el momento, no se conocen las conclusiones del ensayo, puesto que todavía no ha finalizado, pero se ha conseguido caracterizar la huella dactilar de los pacientes con EP e identificar las principales diferencias respecto a los controles sanos y a los pacientes con Alzheimer. Además, se han identificado diferencias entre los estadios de la enfermedad gracias a que relacionaron los datos con las escalas de Hoehn y Yahr y el UPDRS III. La metodología propuesta podrá suponer un procedimiento poco invasivo, económico, efectivo e innovador que no solo servirá para identificar la enfermedad, sino para ver su progresión y la efectividad de los tratamientos utilizados. Sin embargo, para la validación de la metodología descrita, deben incluir a más cohortes que se encuentren en distintas etapas de la enfermedad y realizar estudios multicéntricos (24).

También se realizaron estudios sobre las proteínas contenidas en las VE en pacientes con la enfermedad. Las mutaciones del gen de la LRRK2 dan lugar a una de las principales causas de EP hereditarias. Esta proteína presenta dos dominios enzimáticos, uno con acción GTPasa y otro con acción quinasa. Una de las mutaciones más comunes en este último dominio es G2019S, la cual puede dar lugar a la autofosforilación del residuo Ser-1292 y generar neurotoxicidad a través de la neuroinflamación (25).

En 2013, se comenzó un estudio observacional de cohortes para establecer si la LRRK2 en VE podía actuar como predictora de la enfermedad. El objetivo era determinar si había diferencia entre los niveles de Ser-1292-LRRK2 en VE en orina de pacientes con EP y en controles sanos. Los resultados mostraron que había un aumento significativo de Ser-1292 LRRK2 en los exosomas de los pacientes con EP y guardaban relación con los datos no motores obtenidos a través de la escala MDS-UPDRS (**figura 8**). Sin embargo, no había relación con el deterioro motor debido a que los pacientes continuaron con sus tratamientos durante la evaluación clínica y la toma de muestras, pudiendo verse enmascarados los resultados por la terapia dopaminérgica. Es por ese motivo que se requieren más estudios para poder correlacionar los síntomas motores y los niveles de Ser-1292 LRRK2 (25).

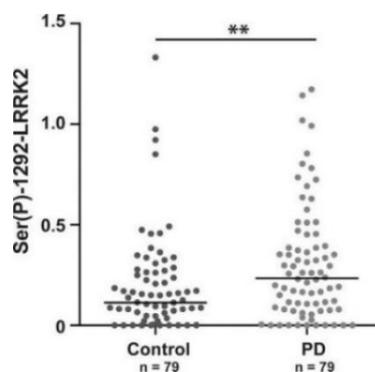


Figura 8: Valores de Ser-1292 LRRK2 de controles sanos frente a pacientes con EP (25).

Como se ha descrito con anterioridad, las VE no solo pueden actuar como biomarcadores de la enfermedad, sino que gracias a su capacidad de atravesar la BHE y falta de inmunogenicidad, debido a la presencia de la proteína CD47 en su superficie que les confiere la capacidad de eludir el sistema fagocítico mononuclear, podrían ser utilizadas como nuevos sistemas de vehiculización de agentes terapéuticos (26).

4.3.2 USOS DE LAS VE COMO NUEVA ESTRATEGIA TERAPÉUTICA

Un área de creciente interés de las VE es la posibilidad de utilizarlas en el tratamiento de la EP y otras enfermedades degenerativas a través de la vehiculización de agentes terapéuticos.

Es necesario establecer una estrategia de carga eficiente para poder utilizar las VE en el tratamiento de la EP. Existen dos procedimientos: a través de una carga endógena, que se produce durante la biogénesis de las VE, o una carga exógena, realizada después del aislamiento de las mismas. En la carga exógena se han utilizado diferentes técnicas como sonicación, electroporación, saponificación, extrusión o congelación y descongelación, entre otras. Sin embargo, estas técnicas no son del todo seguras porque modifican levemente tanto la morfología de las VE como sus características fisicoquímicas. Otra alternativa es la carga endógena, realizada durante la biogénesis de las VE, a través de la maquinaria endógena propia de la célula antes de ser liberadas al espacio extracelular. Un ejemplo de este tipo de técnica es la transfección, la cual se realiza al cargar ARN, o mediante incubación simultánea con las células (27).

Una de las líneas de investigación abiertas se basa en la carga de un ARN que silencia la expresión de α -syn (siARN), evitando así su agregación y lo que esto desencadena. Para ello, en uno de los estudios realizado por el departamento de neurociencias de la Universidad de Londres en 2014, se diseñaron células dendríticas modificadas que liberaban VE con siARN α -syn encapsulado en su interior y en las que en su superficie presentaban un péptido derivado de la glicoproteína del virus de la rabia (RVG). Este péptido se dirige selectivamente a las células del cerebro y promueve el paso a través de la BHE mediante su unión a los receptores nicotínicos de acetilcolina. Tras el aislamiento y caracterización de las VE, estas fueron inyectadas a ratones modificados genéticamente y se observó que a los 7 días los niveles de la proteína α -syn y sus agregados habían disminuido (28).

Por otro lado, durante la EP se ven afectadas enzimas que actúan contra los ROS generados, como son la superóxido dismutasa, la catalasa, etc. Estas enzimas son capaces de actuar impidiendo la neuroinflamación y, por tanto, la degeneración de las neuronas dopaminérgicas. Por ese motivo, Haney et al, investigaron la posibilidad de incorporar la catalasa dentro de los exosomas (exoCAT) puesto que es una enzima que se degrada fácilmente.

Los resultados mostraron que estos exosomas, los cuales fueron obtenidos de macrófagos derivados de la médula ósea, presentan una ventaja gracias a la gran habilidad para distribuirse a través del SNC y unirse a las membranas plasmáticas de las células, eludiendo el sistema fagocítico mononuclear. Además, los ensayos realizados *in vitro* demostraron que los exoCAT disminuían los ROS y tenían un efecto protector frente al estrés oxidativo generado.

Posteriormente, se estudió la posibilidad de administrar estos exoCAT por vía intranasal en ratones. Se observó que los exosomas accedían a través de estas vías al cerebro y que disminuían significativamente la inflamación cerebral y, en consecuencia, aumentaban la supervivencia de las neuronas en los ratones estudiados. Asimismo, se estudiaron los mecanismos de carga de los exoCAT y se vio que los obtenidos por permeabilización con saponina tenían mayores efectos terapéuticos que los obtenidos por sonicación, pudiendo ser debido al mantenimiento de la morfología de los exosomas. Es necesario tener en cuenta en investigaciones futuras tanto la molécula de carga como la técnica por la que se realiza. (figura 9) (29).

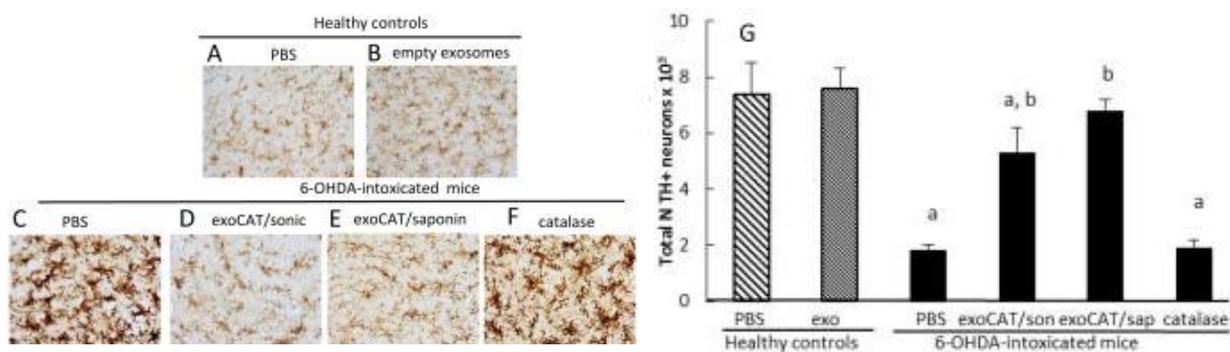


Figura 9: Efectos antiinflamatorios de los ExoCAT en murina de ratones con EP. A y B muestran controles sanos tratados con PBS (*phosphate buffered saline*, por sus siglas en inglés) y exosomas vacíos respectivamente. C. Ratones con EP tratados con PBS. D y E ratones tratados con exoCAT obtenidos por sonicación y por saponificación. F. ratones tratados con catalasa de manera directa. En la imagen G se muestra el número de neuronas dopaminérgicas, a través del biomarcador TH+ (del inglés *tyrosin hydroxilase*) en ratones control sanos a los que se les ha administrado exosomas y PBS, y en ratones enfermos tratados con PBS, con los dos exoCAT y con la propia catalasa (29).

Otro estudio realizado en 2021 se basó en la carga de curcumina en exosomas derivados de células mesenquimales, los cuales presentan gran cantidad de miARN y proteínas con un efecto terapéutico. Entre ellos encontramos el miR-133b, que presenta un efecto neuroprotector y se expresa en las neuronas dopaminérgicas de la sustancia negra, viéndose disminuido en la EP. Sin embargo, aunque estas VE derivadas de células mesenquimales suponen grandes ventajas, por si solas no pueden eliminar los agregados de α -syn. Por ese motivo se cargó curcumina, un fármaco que actúa inhibiendo la agregación de la α -syn potenciando su autofagia, para así eliminar los agregados formados y reducir la muerte neuronal.

El objetivo principal del estudio era actuar sobre 3 puntos clave en la EP: disminuir los agregados de α -syn mediante la carga de curcumina, promover el crecimiento de los axones a través del miR-133b y, por último, actuar sobre la neuroinflamación. Para ello, se propuso construir un nanotransportador (PR-EXO/PP@Cur) basado en los exosomas derivados de células mesenquimales. Por un lado, tal y como ocurría en el ensayo comentado anteriormente, se incorporó a la superficie de los exosomas el péptido RVG y el péptido P para dirigirse al SNC, formando el PR-EXO. Por otro lado, como la curcumina es un fármaco hidrofóbico, fue encapsulada en un polímero que a su vez actuaba contra los ROS. También se añadieron nanopartículas supermagnéticas de óxido de hierro (SPION) para poder observar la acumulación de estas VE en el cerebro. Así, se formó el PP@Cur. Por último, mediante la técnica de ultrasonidos se incorporó la curcumina a los exosomas, formando el PR-EXO/PP@Cur. En la **figura 10** se muestra un esquema de formación de este sistema.

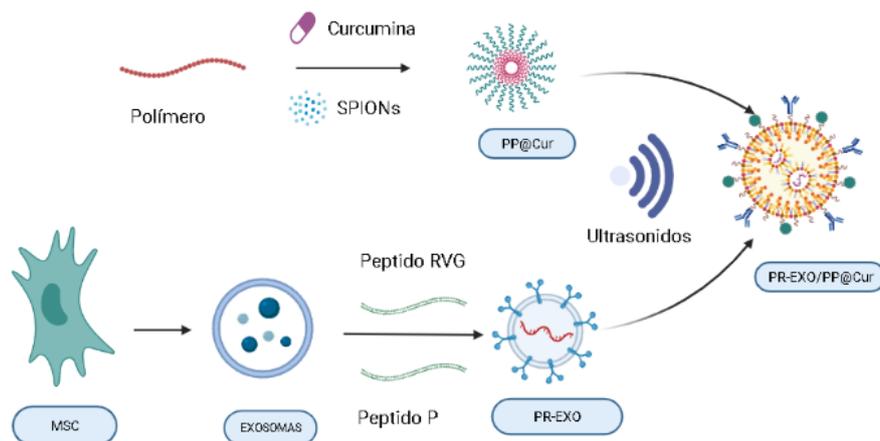


Figura 10: Esquema de la formación de los PPEXO/PP@Cur. MSC: células mesenquimales; PP@CUR: curcumina encapsulada y rodeada de partículas; PR-EXO: Exosomas con péptido RVG y P en su superficie; PR-EXO/PP@Cur: sistema formado por los exosomas y la curcumina. Imagen de elaboración propia creada a partir de la referencia (30).

Estos sistemas fueron administrados por vía intranasal durante 15 días a ratones a los cuales se les había inducido la EP previamente. Se observó que los síntomas motores y la coordinación mejoraron significativamente, gracias a los efectos de la curcumina y el miR-133b. Además, como se ha comentado anteriormente, estos nanotransportadores también actuaban sobre la neuroinflamación y se vio una disminución de la activación de la microglía gracias a la cuantificación de un biomarcador de esta, la proteína adaptadora de unión al calcio ionizado denominada Iba1 por sus siglas en inglés.

El estudio contaba con seis grupos de ratones, diferenciando entre grupo control, ratones a los que se les había inducido la EP y ratones con EP a los que se les administró distintas subunidades del sistema formado. También se observaron diferencias entre el régimen de administración. A cuatro grupos de ratones se les administró los sistemas correspondientes 2 veces al día y a otro, una vez al día. Aunque reduciendo el número de administraciones a la mitad no se obtuvieron los mismos resultados, estos continuaron siendo positivos. En la **figura 11** se muestran los resultados de las pruebas realizadas a los distintos grupos de ratones para observar su capacidad de movimiento y su coordinación (30).

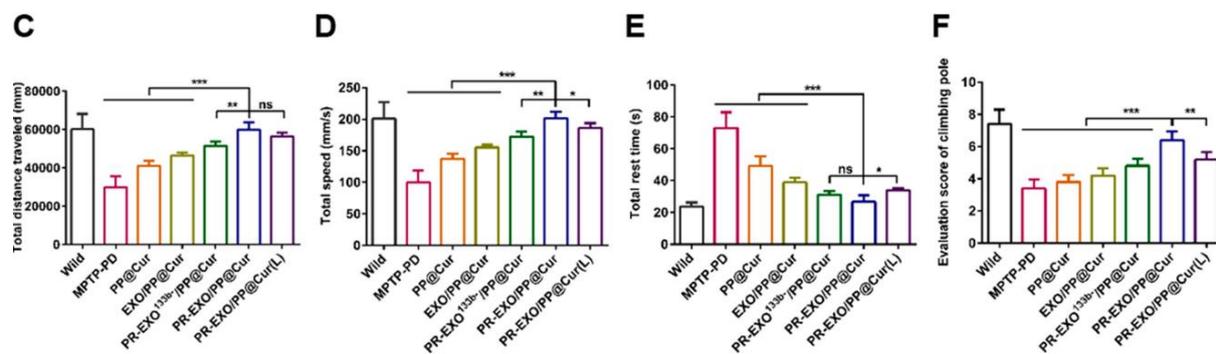


Figura 11: Resultados obtenidos de los ratones a través de las distintas pruebas realizadas a los ratones controles y ratones tratados con distintas modificaciones de los exosomas. C: distancia recorrida; D: velocidad; E: tiempo de descanso; F: puntuación obtenida en el test de escalada. EXO/PP@Cur: curcumina encapsulada en exosomas; PP@cur: Curcumina encapsulada en polímero. PR-EXO/PP@Cur: grupo de ratones con doble administración diaria del sistema; PR-EXO/PP@Cur(L): grupo de ratones con una única administración (30).

Este sistema construido muestra como la modificación de las VE y la carga de curcumina puede dar lugar a grandes resultados que pueden prosperar y suponer en un futuro nuevas herramientas terapéuticas de la enfermedad.

4.4 FUTURO DE LAS VESÍCULAS EXTRACELULARES Y LA ENFERMEDAD DE PARKINSON

Por el momento, el uso de las VE para el diagnóstico y tratamiento de la enfermedad continúa en investigación. Los estudios realizados reflejan la gran utilidad de las VE como biomarcadores de la enfermedad, gracias a la información que portan sobre el estado del individuo. Sin embargo, todavía no se han obtenido resultados concluyentes, y es necesario continuar investigando. En la **tabla 1** se muestran los ensayos clínicos actuales que se están realizando con el objetivo de determinar posibles biomarcadores contenidos en las VE. Algunos de estos estudios han sido citados previamente en la sección 4.3.1 de este documento.

Tabla 1: Resumen de los ensayos que se están llevando a cabo actualmente. Tabla elaborada a partir de la información actualizada en Clinical Trials (31).

Titulo	Tipo/Estado	Intervención	Resumen	NCT
<i>Raman Spectroscopy Analysis of Saliva and Salivary Extracellular Vesicles as New Biomarkers for Parkinson's Disease and Atypical Parkinsonism's.</i>	Caso control observacional Reclutamiento	Aislamiento de VE de la saliva de pacientes y voluntarios sanos	Estudio de biomarcadores presentes en VE en saliva para distinguir EP de parkinsonismo atípico.	NCT05320250
<i>FoxBioNet: ECV (Extracellular Vesicle) 004</i>	Caso control observacional Reclutamiento	Aislamiento de VE del LCR de pacientes y voluntarios sanos.	Estudio del LRRK2 contenido en las VE como marcador fiable de la EP a partir del LCR	NCT04603326
<i>Clinical, Molecular and Electrophysiological Profiling of Parkinson's Disease: The Role of Non-pharmacological Therapies</i>	Estudio intervenacional Sin reclutamiento por el momento	Tratamiento no farmacológico a través de ejercicio físico y neuromodulación	Estudio de la relación de alfa-syn y la neuroinflamación a través del estudio de biomarcadores, incluidas las VE, de la enfermedad y de tratamientos no farmacológicos.	NCT05807581

En relación al tratamiento, no se han realizado ensayos clínicos que se basen en la utilización de VE en humanos, y es necesario continuar investigando sus posibilidades, así como establecer un correcto protocolo de aislamiento de VE y de carga de fármacos antes de ensayarlos en humanos. Un mayor conocimiento sobre la EP y mayores investigaciones con las VE podrían suponer un gran cambio en el futuro de la enfermedad, tanto en el tratamiento como diagnóstico de la misma y, lo más importante, un menor impacto de la enfermedad en la sociedad (31).

5. CONCLUSIONES

En los últimos años, la incidencia de las enfermedades neurodegenerativas ha aumentado considerablemente, en especial la EP. Las limitaciones de los tratamientos actuales, junto al mayor impacto de dicha enfermedad, han hecho que se estudien otras alternativas terapéuticas, entre las que se encuentra la posible utilización de las VE. Igualmente, el uso de las VE como biomarcadores de diagnóstico de la enfermedad se ha investigado de manera más intensa en los últimos años.

En relación a su uso como diagnóstico, los resultados obtenidos, tanto en los estudios preclínicos como en los ensayos clínicos, parecen ser prometedores. Este hecho resulta trascendental porque podrían servir para realizar un diagnóstico temprano de la enfermedad y poder instaurar un tratamiento más específico y eficaz. Sin embargo, a día de hoy, aún no se han obtenido resultados concluyentes, puesto que todavía se necesitan realizar más investigaciones para poder consolidar un protocolo de aislamiento y diferenciación de las distintas subpoblaciones de VE

Por otro lado, las VE también se han descrito como un sistema prometedor para la vehiculización de fármacos, favoreciendo el acceso de los mismos al SNC. Sin embargo, los ensayos preclínicos realizados hasta la fecha muestran la necesidad de establecer un procedimiento correcto de carga de fármacos para poder utilizarlas como sistemas terapéuticos.

En conclusión, aunque los resultados parecen ser prometedores, aún queda un largo recorrido para poder incorporar las VE al diagnóstico y tratamiento de la EP. Se necesita realizar un mayor número de estudios para poder determinar su potencial y conseguir resultados representativos, y así poder obtener una translación clínica real de las VE para el tratamiento y diagnóstico de la EP.

6. BIBLIOGRAFÍA

(1) Martínez-Fernández. R, Gasca-Salas C. C, Sánchez-Ferro Á, Ángel Obeso J. ACTUALIZACIÓN EN LA ENFERMEDAD DE PARKINSON. Revista Médica Clínica Las Condes 2016; 27 (3): 363-379.

(2) Postuma RB, Berg D, Stern M, Poewe W, Olanow CW, Oertel W, et al. MDS clinical diagnostic criteria for Parkinson's disease. Movement disorders 2015; 30 (12): 1591-1601.

- (3) Bloem BR, Okun MS, Klein C. Parkinson's disease. *The Lancet* 2021; 397 (10291): 2284-2303.
- (4) Rufino-Ramos D, Albuquerque PR, Carmona V, Perfeito R, Nobre RJ, Pereira de Almeida L. Extracellular vesicles: Novel promising delivery systems for therapy of brain diseases. *J Controlled Release* 2017; 262: 247-258.
- (5) Pinnell JR, Cui M, Tieu K. Exosomes in Parkinson disease. *J Neurochem* 2021; 157 (3): 413-428.
- (6) Enfermedad de Parkinson. [Internet] Organización mundial de la salud. 2022. [Accedido el 05/02/2023] Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/parkinson-disease>
- (7) Balestrino R, Schapira AHV. Parkinson disease. *European journal of neurology* 2020; 27 (1): 27-42.
- (8) Kwon HS, Koh S. Neuroinflammation in neurodegenerative disorders: the roles of microglia and astrocytes. *Translational Neurodegeneration* 2020; 9 (1): 42.
- (9) Pérez Arellano JL editor. Sisinio de Castro, *Manual de Patología general*. 8ª edición ed. Barcelona: Elsevier; 2019. 676-683.
- (10) Chan DKY, Xu YH, Chan LKM, Braidy N, Mellick GD. Mini-review on initiatives to interfere with the propagation and clearance of alpha-synuclein in Parkinson's disease. *Transl Neurodegener* 2017; 6: 33-6.
- (11) Poewe W, Seppi K, Tanner CM, Halliday GM, Brundin P, Volkman J, et al. Parkinson disease. *Nature Reviews Disease Primers* 2017; 3 (1): 17013.
- (12) Tansey MG, Wallings RL, Houser MC, Herrick MK, Keating CE, Joers V. Inflammation and immune dysfunction in Parkinson disease. *Nature Reviews Immunology* 2022; 22 (11): 657-673.
- (13) López Regueiro S, Castiella Lecuona E, Ramos Saix E, Blas Garrido C. Curso básico. Formación terapéutica para pacientes neurológicos. Tema 3. Enfermedad de Parkinson. *Farmacia Profesional* 2014; 28 (3): 34-44.

- (14) Rodríguez-Violante M, Cervantes-Arriaga A. La escala unificada de la enfermedad de Parkinson modificada por la Sociedad de Trastornos del Movimiento (MDS-UPDRS): aplicación clínica en investigación. *Arch Neurocienc*. 2014; 19 (3): 157-163.
- (15) Armstrong MJ, Okun MS. Diagnosis and Treatment of Parkinson Disease: A Review. *JAMA* 2020; 323 (6): 548-560.
- (16) LeWitt PA. Levodopa therapy for Parkinson's disease: Pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Movement disorders* 2015; 30 (1): 64-72.
- (17) Rascol O, Payoux P, Ory F, Ferreira JJ, Brefel-Courbon C, Montastruc J. Limitations of current Parkinson's disease therapy. *Annals of neurology* 2003; 53 (S3): S3-S15.
- (18) Théry C, Witwer KW, Aikawa E, Alcaraz MJ, Anderson JD, Andriantsitohaina R, et al. Minimal information for studies of extracellular vesicles 2018 (MISEV2018): a position statement of the International Society for Extracellular Vesicles and update of the MISEV2014 guidelines. *Journal of Extracellular Vesicles* 2018; 7 (1): 1535750.
- (19) Zhao Y, Yang G. Potential of extracellular vesicles in the Parkinson's disease – Pathological mediators and biomarkers. *Neurochemistry international* 2021; 144: 104974.
- (20) Younas N, Fernandez Flores LC, Hopfner F, Höglinger GU, Zerr I. A new paradigm for diagnosis of neurodegenerative diseases: peripheral exosomes of brain origin. *Transl Neurodegener* 2022; 11 (1).
- (21) Parnetti L, Gaetani L, Eusebi P, Paciotti S, Hansson O, El-Agnaf O, et al. CSF and blood biomarkers for Parkinson's disease. *The Lancet Neurology* 2019; 18 (6): 573-586.
- (22) Vaz M, Soares Martins T, Henriques AG. Extracellular vesicles in the study of Alzheimer's and Parkinson's diseases: Methodologies applied from cells to biofluids. *J Neurochem* 2022; 163 (4): 266-309.
- (23) Grossi I, Radeghieri A, Paolini L, Porrini V, Pilotto A, Padovani A, et al. MicroRNA-34a-5p expression in the plasma and in its extracellular vesicle fractions in subjects with Parkinson's disease: An exploratory study. *Int J Mol Med* 2021; 47 (2): 533-546.

- (24) Carlomagno C, Bertazioli D, Gualerzi A, Picciolini S, Andrico M, Rodà F, et al. Identification of the Raman Salivary Fingerprint of Parkinson's Disease Through the Spectroscopic- Computational Combinatory Approach. *Front Neurosci* 2021; 15: 704963.
- (25) Fraser KB, Rawlins AB, Clark RG, Alcalay RN, Standaert DG, Liu N, et al. Ser(P)-1292 LRRK2 in urinary exosomes is elevated in idiopathic Parkinson's disease. *Mov Disord* 2016; 31 (10): 1543-1550.
- (26) Escudé Martínez de Castilla P, Tong L, Huang C, Sofias AM, Pastorin G, Chen X, et al. Extracellular vesicles as a drug delivery system: A systematic review of preclinical studies. *Adv Drug Deliv Rev* 2021; 175: 113801.
- (27) Elsharkasy OM, Nordin JZ, Hagey DW, de Jong OG, Schiffelers RM, Andaloussi SE, et al. Extracellular vesicles as drug delivery systems: Why and how? *Adv Drug Deliv Rev* 2020; 159: 332-343.
- (28) Cooper JM, Wiklander PBO, Nordin JZ, Al-Shawi R, Wood MJ, Vithlani M, et al. Systemic exosomal siRNA delivery reduced alpha-synuclein aggregates in brains of transgenic mice. *Mov Disord* 2014; 29 (12): 1476-1485.
- (29) Haney MJ, Klyachko NL, Zhao Y, Gupta R, Plotnikova EG, He Z, et al. Exosomes as drug delivery vehicles for Parkinson's disease therapy. *J Control Release* 2015; 207:18-30.
- (30) Peng H, Li Y, Ji W, Zhao R, Lu Z, Shen J, et al. Intranasal Administration of Self-Oriented Nanocarriers Based on Therapeutic Exosomes for Synergistic Treatment of Parkinson's Disease. *ACS Nano* 2022; 16 (1): 869-884.
- (31) U.S. Department of Health and Human Services, National Institutes of Health, National Library of Medicine, and National Center for Biotechnology Information. Clinical trials. [Internet] [Accedido el 27/04/2023] Disponible en: <https://beta.clinicaltrials.gov/>.