



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
Unidad Xochimilco

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

DEPARTAMENTO DE SISTEMAS BIOLÓGICOS

LICENCIATURA EN QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA

**“Evaluación del efecto antialodínico de la rotigotina en
ratas con la enfermedad de Parkinson inducida con 6-
OHDA”**

PRESENTA

PALMEROS BARREDA DAFNE ALETSE

MATRÍCULA

2183029461

ASESORA INTERNA

Dra. Beatriz Godínez Chaparro

No. Económico 36337

Adscripción. Depto. Sistemas Biológicos, División de Ciencias Biológicas y de la Salud

ASESORA EXTERNA

M. en C. Jazmin Santamaria Anzures

Adscripción. Doctorado en Ciencias Farmacéuticas

CIUDAD DE MÉXICO, NOVIEMBRE DE 2023

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco, nuestra casa abierta al tiempo, a la carrera en Química Farmacéutica Biológica y su coordinación, al Departamento de Sistemas Biológicos de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud, al Bioterio Unidad de Producción y Experimentación de Animales de Laboratorio (UPEAL) de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco y el Comité Interno para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio (CICUAL).

A la Dra. Beatriz Godínez Chaparro por su apoyo y guía en el proyecto, así como en la redacción de este.

A la M. en C. Jazmín Santamaria Anzures por su aliento y apoyo durante todo el proceso experimental.

A la Dra. Estefanía Gonzalez por su sustento y auxilio durante la parte experimental.

A las ratas que formaron parte del estudio por ser base fundamental en la experimentación científica.

A mi fiel compañero y amigo, Duke, por no dejarme sola y dormir junto a mi cada noche que me quedaba leyendo, estudiando y redactando.

A mi novio, André, quien me ha brindado todo su apoyo y amor incondicional durante este tiempo.

A mi hermana, Denisse, quien siempre me alegra los días con su alegría, cariño y ocurrencias.

Y a mi madre, Marta, quien en todo momento me alentó a seguir adelante y a hacer lo que me gusta, por apoyarme en cada paso que doy, por creer en mí más que nadie. Sin ti, no habría sido posible llegar hasta aquí, infinitas gracias.

ÍNDICE

RESUMEN	4
MARCO TEÓRICO	4
¿Qué es la Enfermedad de Parkinson?	4
Síntomas motores y no-motores de le EP	5
Tratamiento farmacológico	5
Dolor	5
Clasificación del dolor en la EP	6
Tratamiento del dolor en la EP	7
Rotigotina	8
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	8
OBJETIVO GENERAL	9
OBJETIVOS PARTICULARES	9
JUSTIFICACIÓN	9
MATERIALES Y MÉTODOS	10
Animales	10
Cirugía para lesión unilateral con 6-OHDA	10
Prueba de cilindro	11
Prueba de conducta de giro inducida por apomorfina	11
Evaluación de alodinia táctil	11
Diseño experimental	11
RESULTADOS	12
Déficit motor inducido por la lesión unilateral con 6-OHDA en la SNpc	12
Efectos agudos de rotigotina sobre la alodinia táctil	13
Efectos subagudos de rotigotina sobre la alodinia táctil	14
DISCUSIÓN	15
CONCLUSIÓN	17
REFERENCIAS	18

RESUMEN

La EP es un trastorno neurodegenerativo que conduce a un deterioro motor y cognitivo incapacitante, el cual es causado por la pérdida de neuronas dopaminérgicas y se caracteriza por la aparición de síntomas motores y no-motores, dentro de los no-motores se destaca el dolor (Martínez-Fernández et al., 2016).

La EP promueve el desarrollo de una gran variedad de tipos de dolor, la prevalencia del dolor en pacientes con la EP es del 40 al 80% aproximadamente. El dolor puede ser tan intenso que puede eclipsar a los síntomas motores (Ford, 2010).

El dolor es considerado un problema común en pacientes con la EP; sin embargo, puede pasarse por alto, principalmente, por los profesionales de la salud. El dolor en la EP se experimenta comúnmente en la columna, las manos y los pies, dificultando o incapacitando las actividades de la vida diaria. El dolor se presenta en todos los estadios de la EP (Gilbert, 2019). A pesar de esto, el dolor en la EP no suele diagnosticarse adecuadamente y/o el tratamiento es ineficaz, por lo que es importante tomarlo en cuenta como parte de la experiencia de la enfermedad y poder manejarlo correctamente (Rotondo et al., 2019).

Por lo tanto, en este proyecto se estudiará el efecto antialodínico de la rotigotina en ratas con la EP.

MARCO TEÓRICO

¿Qué es la Enfermedad de Parkinson?

La enfermedad de Parkinson consiste en un trastorno progresivo neurodegenerativo derivado de una alteración en la producción de dopamina causando un desequilibrio en el control del sistema motor. Suele desarrollarse durante la etapa adulta tanto en hombres como en mujeres. La EP fue descrita por primera vez por James Parkinson en 1817, a la cual denominó como "alteración del sistema motor" (Rotondo et al., 2019; Martínez-Fernández. et al., 2016). Este trastorno es causado por el deterioro o pérdida de las neuronas dopaminérgicas ocasionando la disminución en la concentración de neurotransmisores, principalmente de dopamina, dificultando el control del movimiento (Secretaría de Salud, 2010).

Síntomas motores y no-motores de la EP

El trastorno de la EP se caracteriza por diversos síntomas, tanto motores como no-motores. Dentro de los síntomas motores que se observan en pacientes con la EP destacan la bradicinesia, rigidez, temblor de manos, inestabilidad postural, dificultad para levantarse, dificultad para hablar, calambres musculares y problemas de equilibrio (Romero-Sánchez et al., 2020; Rotondo et al., 2019).

Asimismo, los síntomas no-motores que se observan en los pacientes con la EP varían desde depresión, ansiedad, psicosis, dificultad para respirar, trastornos del sueño, lentitud del pensamiento, fatiga, disfunción vesical, deterioro cognitivo y dolor (Romero-Sánchez et al., 2020; Rotondo et al., 2019). Es importante prestar suma atención a los síntomas no motores, debido a que, durante el diagnóstico, estos suelen omitirse y son de vital importancia para el diagnóstico de la EP.

Tratamiento farmacológico

La EP es un trastorno progresivo, que, como ya se mencionó, se presenta tanto con síntomas motores como no-motores. Debido a la diversidad de síntomas que pueden presentar los pacientes y a la variabilidad de la evolución clínica de la enfermedad, hasta el momento, no se cuenta con un tratamiento eficaz capaz de disminuir la intensidad de los síntomas que presentan los pacientes con la EP (Kulisevsky, 2022).

En la actualidad, se cuenta con tratamientos neuroprotectores para la EP, los cuales tienen como finalidad minimizar la pérdida de neuronas dopaminérgicas, con ello se previene la enfermedad, se detiene su progreso y disminuyen las posibles lesiones secundarias (Kulisevsky, 2022).

Es importante buscar nuevas alternativas terapéuticas que permitan minimizar o aliviar los síntomas motores y no-motores, particularmente, en el laboratorio estamos interesados en aminorar y/o aliviar el dolor inducido por la EP y con ello mejorar la calidad de vida del paciente.

Dolor

El dolor es una sensación no agradable que compromete la calidad de vida de las personas que lo padecen, se considera una condición prevalente y se caracteriza por ser difícil de diagnosticar y tratar (Rosenbaum et al., 2022). De acuerdo con la IASP (2020) (de sus siglas en inglés: International Association for the Study of Pain), el dolor se define como una

“experiencia sensorial y emocional desagradable asociada o semejante a un o posible daño tisular”.

Como ya se mencionó, el dolor es uno de los síntomas no-motores más frecuentes en la EP (Mylius et al., 2021). Esta manifestación afecta del 40% al 90% de pacientes con la EP (Cortes-Altamirano et al., 2022). A lo largo de diversos estudios, el dolor en pacientes con EP se presenta en diversas partes del cuerpo afectadas o no por los síntomas motores. También, el dolor se caracteriza por ser heterogéneo en cuanto a calidad, ubicación corporal y duración en pacientes con la EP, por lo que el dolor, puede llegar a eclipsar los diversos síntomas motores de la enfermedad (Cortes-Altamirano et al., 2022).

Clasificación del dolor en la EP

Nociceptivo

En este tipo de dolor se ven involucrados los nociceptores, receptores del dolor que se activan en presencia de estímulos nocivos, ya sean mecánicos, térmicos o relacionados con algún tipo de lesión. Se caracteriza por altas puntuaciones de dolor en pacientes con peor calidad de vida y dolor localizado (en tronco y espalda baja) (Mylius et al., 2021).

Neuropático

Este tipo de dolor se origina a partir de lesiones o enfermedades del sistema somatosensorial central o periférico con características muy definidas, como hormigueo, ardor o descargas eléctricas (Mylius et al., 2021), así como hipersensibilidad al dolor como alodinia e hiperalgesia. Se caracteriza por dolor generalizado (en extremidades inferiores).

Nociplástico

El dolor nociplástico se deriva de la hiperactividad del dolor nociceptivo sin evidencia de algún estímulo nocivo, es decir, hay activación de receptores de dolor que se activan sin haber algún estímulo nocivo. Se caracteriza por tener bajas puntuaciones de dolor en pacientes con mejor calidad de vida y dolor generalizado o no localizado (en extremidades inferiores y superiores) (Mylius et al., 2021).

Se ha demostrado que los tres tipos de dolor se diferencian entre sí por sus características, así como también por mecanismos de la activación y de la respuesta a los tratamientos (Mylius et al., 2021).

Tratamiento del dolor en la EP

La característica principal de la EP es la pérdida de células dopaminérgicas, encargadas de producir la dopamina, un neurotransmisor que ayuda a modular los movimientos corporales. Este descubrimiento fue la base para la búsqueda y el desarrollo de nuevos tratamientos eficaces para tratar los síntomas motores de la EP (Carretero, 2006).

Una vez tratados y controlados los síntomas motores, el tratamiento enfocado al dolor en la EP debe seleccionarse de acuerdo con el tipo de dolor de acuerdo con su origen neurofisiológico al que corresponda: nociceptivo, neuropático o nociplástico (Mylius, Möller, et al., 2021).

En el caso del dolor nociceptivo, se empiezan fármacos dopaminérgicos, es decir, que estimulan los receptores de dopamina. La levodopa (L-DOPA) es el fármaco más eficaz y el más empleado en pacientes mayores con la EP, se trata de un precursor del metabolismo de la dopamina que incrementa su síntesis. Cuando el tratamiento con L-DOPA ya no es igual de eficaz, se empiezan fármacos agonistas de la dopamina como la rotigotina y el pramipexol. Otros, como la entacapona, inhibidor de la catecol-O-metiltransferasa (COMT), y la safinamida, inhibidor de la monoaminoxidasa tipo B (MAO-B), ambos reducen la degradación de levodopa, aumentando su disponibilidad (Mylius et al., 2021; Rotondo et al., 2019).

Asimismo, pueden disponerse de fármacos no dopaminérgicos para el dolor nociceptivo, como lo son los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs), oxicodona, naloxona, tapentadol o cannabinoides (Mylius, Möller, et al., 2021). Los cannabinoides se consideran fármacos neuroprotectores, por lo que disminuyen el progreso y el curso de la EP (Rotondo et al., 2019).

Para el caso del dolor nociplástico pueden emplearse fármacos disponibles para el dolor nociceptivo, aunque no se pueden recomendar completamente, ya que este tipo de dolor no responde al tratamiento dopaminérgico (Mylius, Möller, et al., 2021).

Para el dolor neuropático, pueden emplearse la L-DOPA y safinamida, como en el caso del dolor nociceptivo debido a la estimulación dopaminérgica.

Rotigotina

La rotigotina (Figura 1) es un agonista dopaminérgico no ergoínico empleado en la EP, su principal función es sustituir el nivel y los efectos de la dopamina en el cerebro, lo que ayuda a controlar mejor los movimientos motores, disminuyendo a su vez el temblor, la inestabilidad y la rigidez (Rajendran et al., 2023).

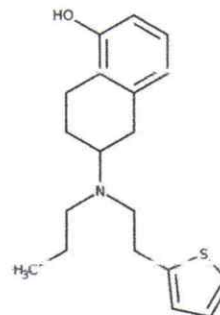


Figura 1. Estructura de la rotigotina.

Este tratamiento actúa parcial o totalmente sobre los receptores dopaminérgicos restaurando los niveles efectivos de dopamina en el cerebro (Rajendran et al., 2023).

Receptores en los que actúa la rotigotina

Debido a que la rotigotina es un agonista dopaminérgico, este actúa en los 5 receptores de dopamina (D1, D2, D3, D4 y D5). La rotigotina posee mayor afinidad a los receptores D1, D2 y D3, y una menor afinidad a los D4 y D5. Se diferencia de otros fármacos, como ropinirol y pramipexol, que tienen menos afinidad con los receptores D1 y D5, y se asemeja a la apomorfina por su eficacia al tratar la EP (Wood et al., 2015).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía estima 50 casos nuevos de la enfermedad de Parkinson por cada 100 mil habitantes al año en México, mientras que, a nivel mundial, se estima que aproximadamente cuatro o cinco millones de personas mayores de 50 años padecen la enfermedad, con una mayor prevalencia en hombres que en mujeres (Instituto Nacional de las Personas Adultas Mayores, 2019).

Esta enfermedad suele presentarse entre los 50 y 65 años, además, los diversos síntomas provocan una mayor dificultad en la realización de actividades cotidianas, causando que los pacientes se aislen y se hagan dependientes, por lo que también afecta a su estado de ánimo (Instituto Nacional de las Personas Adultas Mayores, 2019). Es por esto, que se requiere de la búsqueda de estrategias terapéuticas con nuevos fármacos o, incluso, a la investigación de los ya existentes en el mercado para proporcionar un adecuado tratamiento del dolor en la EP.

Se ha demostrado que el tratamiento con rotigotina (un fármaco que ya se encuentra en el mercado), como monoterapia en la EP, mejora las escalas de discapacidad y retrasa el

tiempo de presentar discinesia, además de que mejora el dolor crónico en pacientes con la EP asociándose a beneficios en el tratamiento del deterioro motor (dolor, inquietud en las extremidades, inmovilidad y calambres). Por tanto, el empleo de agonistas dopaminérgicos no ergóticos, como la rotigotina, permite mejorar significativamente la calidad de vida de los pacientes (Alonso Cánovas et al., 2014; Rascol et al., 2016; Trenkwalder et al., 2011).

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el posible efecto antialodínico inducido por la rotigotina en ratas con la EP.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Inducir la EP a través de la lesión unilateral de la SNpc con 6-OHDA en ratas.
- Evaluar la actividad motora de ratas sometidas a la lesión unilateral de la SNpc con 6-OHDA para demostrar la presencia de la EP, con la prueba de apomorfina y la prueba del cilindro.
- Determinar el efecto antialodínico inducido por rotigotina (0.1, 0.5 y 0.75 mg/Kg intranasal) en ratas con la EP.

JUSTIFICACIÓN

El dolor es considerado un síntoma no motor habitual en pacientes con la EP, el cual tiene una prevalencia del 29 al 82%, por lo que cada vez hay más estudios dedicados a controlar los síntomas de dolor relacionados a la EP y mejorar la calidad de vida de los pacientes (Aguirre-Vidal et al., 2020).

El dolor en la EP posee relevancia clínica importante ya que impacta negativamente la calidad de vida de los pacientes. Es importante identificar el tipo de dolor que presenta el paciente para, en función de ello, prescribir un tratamiento adecuado. Desafortunadamente, no existe un tratamiento específico que ayude a mitigar el dolor en la EP, por lo que es de vital importancia buscar nuevas moléculas o reposicionar fármacos que coadyuven en el alivio y/o tratamiento del dolor para estos pacientes.

La rotigotina es un fármaco utilizado ampliamente para el tratamiento de la EP y para otros desórdenes degenerativos del movimiento, la rotigotina es un agonista de acción directa de la dopamina, la cual realiza fuertes enlaces con los receptores dopaminérgicos D3, y preferentemente a los D2 (Wood et al., 2015).

Estudios recientes demuestran que las microesferas de rotigotina presentan efecto antinociceptivo en un modelo de dolor inflamatorio (carragenina) (T. Li, Wang, Wang, et al., 2021). Además, Ting y colaboradores (2021) demostraron que el efecto antinociceptivo inducido por las microesferas de rotigotina es mediado a través de la activación de los receptores dopaminérgicos D2/D3 en un modelo de dolor inflamatorio y la administración de naloxona bloquea el efecto antinociceptivo inducido por rotigotina (T. Li, Wang, Zhang, et al., 2021), sugiriendo que los receptores opioides pueden jugar un papel importante en el efecto antinociceptivo inducido por este fármaco. Si bien la rotigotina ha demostrado efecto antinociceptivo en modelos animales de dolor inflamatorio. Resulta interesante estudiar si la rotigotina puede producir efectos antialodínicos (dolor neuropático) inducido por la lesión de la vía nigroestriatal en ratas con la enfermedad de Parkinson.

MATERIALES Y MÉTODOS

Animales

Se emplearon ratas macho Wistar (de 280-320 g) proporcionados por el Bioterio Unidad de Producción y Experimentación de Animales de Laboratorio (UPEAL) de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco, protocolo 148 aprobado por el Comité Interno para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio (CICUAL) de acuerdo con las Guías para la Experimentación Animal de la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor (IASP). Los animales fueron resguardados bajo condiciones de luz/oscuridad 12:12 h a 22 ± 1 °C, con acceso libre a agua y alimento siguiendo los lineamientos establecidos por el Consejo Mexicano para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio y la NORMA Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.

Cirugía para lesión unilateral con 6-OHDA

Para inducir la enfermedad de Parkinson, los animales se anestesiaron con una mezcla de ketamina (48 mg/Kg, i.p.) y xilacina (12 mg/Kg, i.p.), posteriormente, se colocaron en el aparato estereotáxico en posición de cúbito prono. De esta manera, se llevó a cabo la cirugía para la lesión unilateral dentro de la vía nigroestriatal por medio de la inyección intracerebral de 6-Hidroxidopamina (6-OHDA), a una concentración de 8 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$, se inyectaron 2 μL a una velocidad de 1 $\mu\text{l}/\text{min}$, esto para los grupos a evaluar, mientras que, para el grupo control (sham) se realizó la cirugía administrando 2 μL de vehículo (ác. ascórbico al 0.02%) durante un minuto. Las coordenadas para la inyección fueron AP

(Antero-Posterior) = -4.0 mm posterior de Bregma, ML (Medio Lateral) = +1.2 mm y DV (Dorso Ventral) = -8.0 mm (Paxinos et al., 2013).

Prueba de cilindro

Con el propósito de evaluar la discapacidad motora inducida por la administración de 6-OHDA, se realizó la prueba de cilindro 14 días después de la lesión, las ratas se colocaron en un cilindro de acrílico transparente de aproximadamente 30 cm de alto por 20 de cm de ancho, registrando la actividad de estas durante 5 min, considerando como actividad normal un mínimo de ocho contactos de pared (valores menores representan asimetría general). Esta prueba fue documentada en video y la evaluación del contacto de extremidades con la pared se clasificó como anterior ipsilateral (IL) y anteriores contralaterales (CL) o como ambas extremidades anteriores (Mendieta et al., 2012).

Prueba de conducta de giro inducida por apomorfina

Para evaluar el éxito de la lesión realizada, se llevó a cabo la prueba de conducta de giro 14 días después de la lesión, en la cual, las ratas se colocaron individualmente en una cámara de plexiglás 15 min antes de la inyección de apomorfina, permitiendo su adaptación al medio. Posteriormente, se administró apomorfina (0.1 mg/Kg, s.c.) disuelta en solución salina al 0.9% y 0.02% de ác. ascórbico. La evaluación se documentó en video y se registró el número de vueltas contralaterales al sitio de la lesión completadas durante 30 min posteriores a la inyección con apomorfina.

Evaluación de alodinia táctil

La alodinia desarrollada a partir de la lesión con 6-OHDA se evaluó mediante los filamentos de von Frey con la prueba de up-down. Las ratas se colocaron en una cámara de observación de plexiglás con fondo de malla de alambre, permitiendo el acceso a las patas traseras (pata ipsilateral (IL) y pata contralateral (CL)) y así, se evaluó la alodinia con los filamentos de von Frey empleando el método de up-down (iniciando con el filamento de 2.0 g aumentando consecutivamente la fuerza), cada estímulo se aplicó por 10 segundos hasta llegar al filamento donde la rata retiró la pata y se empleó el filamento de fuerza anterior (los resultados se presentarán como el 50% de respuesta de retirada de la pata empleando el método descrito por Dixon).

Diseño experimental

Se determinó el efecto antialodínico inducido por la administración aguda y subaguda (5 días) de rotigotina en ratas con la EP. Primero se identificó si la hipersensibilidad (alodinia)

inducida por la lesión fue revertida con la administración de rotigotina. Se contó con los grupos naive, sham, vehículo, 6-OHDA y 6-OHDA+rotigotina con ratas asignadas aleatoriamente. El tratamiento agudo consistió en dosis crecientes de rotigotina de 0.1, 0.5 y 0.75 mg/Kg o de vehículo por vía intranasal y se evaluó la alodinia aguda (1, 2, 4 y 8 h), al finalizar la evaluación, los animales se resguardaron en sus cajas. Para el tratamiento subagudo, se emplearon los mismos animales que en el tratamiento agudo, conservando el mismo grupo y tratamiento al que fueron asignados, igualmente, se evaluó la alodinia previa a la administración de dosis crecientes de rotigotina o vehículo, los animales se resguardaron en sus respectivas cajas de acrílico y se evaluó la alodinia previa a la siguiente aplicación del tratamiento para cada grupo experimental. Finalmente, el día 25 los animales fueron decapitados y perfundidos con paraformaldehído al 4% para análisis posteriores.

RESULTADOS

Déficit motor inducido por la lesión unilateral con 6-OHDA en la SNpc

Las pruebas de comportamiento de apomorfina y cilindro se realizaron 14 días posteriores a la lesión unilateral con 6-OHDA (*Figura 2*). Las ratas con la lesión unilateral con 6-OHDA mostraron un aumento significativo en el número de rotaciones contralaterales inducidas por apomorfina con respecto a los grupos naive, sham y vehículo (ác. ascórbico al 0.02%). Asimismo, los animales lesionados con 6-OHDA presentaron una disminución significativa en el uso de la extremidad anterior contralateral en comparación con los grupos naive y sham, que no presentaron una discapacidad motora inducida por 6-OHDA durante la exploración de las paredes del cilindro.

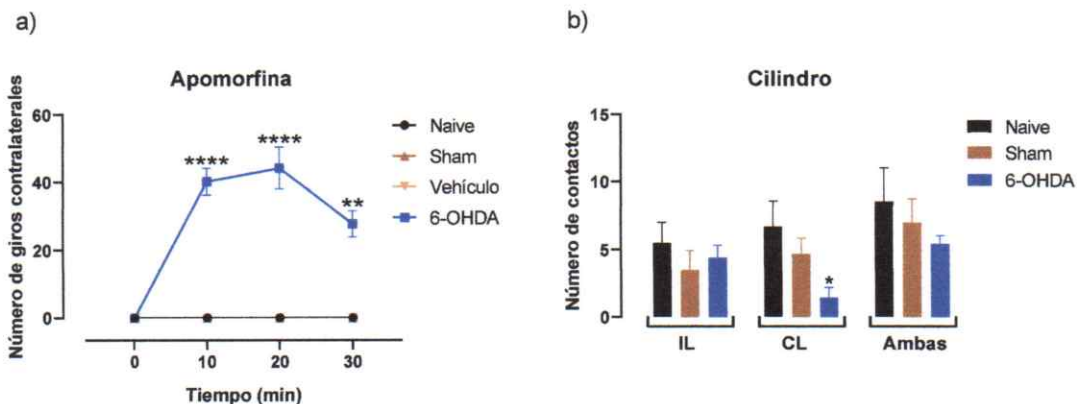


Figura 2. Conductas motoras del modelo de la EP provocadas por la lesión unilateral con 6-OHDA en la SNpc en ratas. a) Representa la evaluación de la prueba conductual de apomorfina posterior a la administración de 0.1 mg/Kg s.c. Los resultados se expresaron como la media \pm E.E. para 6 animales en los grupos naive, sham y vehículo y para 28 animales en el grupo 6-OHDA, ****P < 0.0001 y **P < 0.01 en comparación con el grupo sham (ANOVA de dos vías seguido de la prueba Bonferroni). b) Representa el uso de ambas extremidades anteriores a los 14 días posteriores a la cirugía. Los resultados se expresaron como la media \pm E.E. para 6 animales en los grupos naive, sham y vehículo y para 28 animales en el grupo 6-OHDA, *P < 0.05 en comparación con el uso de ambas extremidades del grupo 6-OHDA (ANOVA de una vía seguido de la prueba de Tukey).

Efectos agudos de rotigotina sobre la alodinia táctil

La lesión unilateral con 6-OHDA indujo alodinia táctil, disminuyendo el umbral de respuesta de retiro de la pata del 50% tanto de la pata ipsilateral como contralateral (Figura 3) en comparación con el grupo sham, demostrando que la cirugía de la lesión unilateral sin la administración de 6-OHDA no induce alodinia. Para el tratamiento agudo, se administraron 3 dosis diferentes de rotigotina (0.1, 0.5 y 0.75 mg/Kg), evaluando la alodinia táctil a diferentes tiempos, con lo cual, se pudo observar que las dosis de rotigotina de 0.5 y 0.75 mg/Kg incrementaron el 50% del umbral de respuesta de retiro de ambas extremidades posteriores, con una diferencia significativa en comparación con el grupo 6-OHDA. Asimismo, la dosis de rotigotina de 0.1 mg/Kg no presentó una diferencia significativa en comparación con el grupo 6-OHDA, por lo que no aumentó el 50% del umbral de retiro de ambas extremidades posteriores. Igualmente, se administró a otro grupo de estudio una dosis de ketamina (1 mg/Kg) como fármaco de referencia para el efecto de respuesta de la alodinia táctil, observándose en la prueba de Tukey que es diferente significativamente de todos los grupos tanto en la pata contralateral como en la ipsilateral, excepto del grupo rotigotina 0.05 mg/Kg para la pata ipsilateral, demostrando que es la dosis con mayor efecto antiaiodínico por su similitud con el efecto de ketamina (fármaco de referencia).

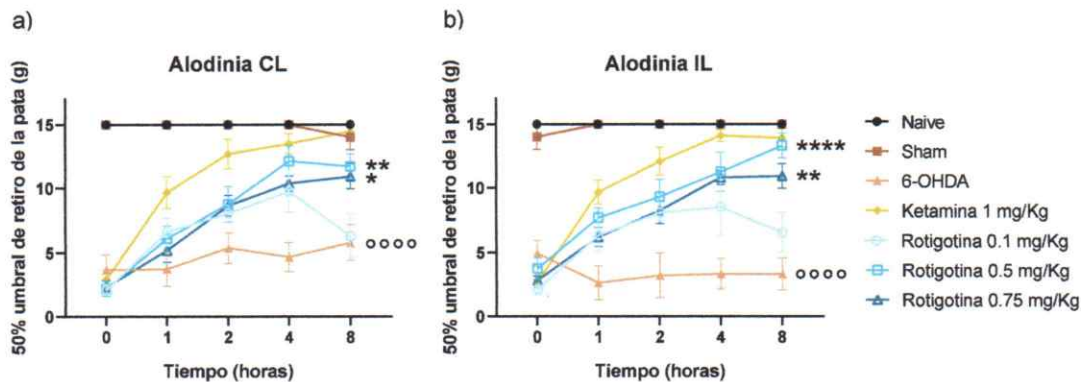


Figura 3. Efecto antialodínico inducido por la administración aguda de rotigotina después de la lesión unilateral con 6-OHDA en la SNpc. a) Representa la respuesta de la extremidad posterior contralateral (CL) y b) la respuesta de la extremidad posterior ipsilateral (IL). Los datos se expresan como la media \pm E.E. para 6 animales en los grupos naive, sham, 6-OHDA y rotigotina 0.75 mg/Kg, para 11 animales en el grupo ketamina 1 mg/Kg, para 5 animales en el grupo rotigotina 0.1 mg/Kg y para 9 animales en el grupo rotigotina 0.5 mg/Kg, $^{oooo}P < 0.0001$ en comparación con el grupo sham, $^*P < 0.05$ en comparación con el grupo 6-OHDA, $^{**}P = 0.01$ en comparación con el grupo 6-OHDA, $^{****}P < 0.0001$ en comparación con el grupo 6-OHDA (ANOVA de dos vías seguido de la prueba de Tukey).

Efectos subagudos de rotigotina sobre la alodinia táctil

Del mismo modo se realizó la administración del tratamiento subagudo (5 días) de las dosis de rotigotina y ketamina (Figura 4), observándose un incremento en el 50% del umbral de retiro de ambas extremidades posteriores. Se evaluó la alodinia táctil durante 5 días seguidos, observando que las dosis de rotigotina (0.5 y 0.75 mg/Kg) mejoraron significativamente el 50% del umbral de retiro de ambas extremidades en comparación con el grupo 6-OHDA. Sin embargo, la dosis menor de rotigotina (0.1 mg/Kg) mejoró significativamente el efecto antialodínico en la extremidad posterior contralateral en comparación con el grupo 6-OHDA. Por otro lado, se administró una dosis de ketamina (1 mg/Kg), el cual, incrementó el 50% del umbral de respuesta de retiro en ambas patas, confirmando su efecto antialodínico.

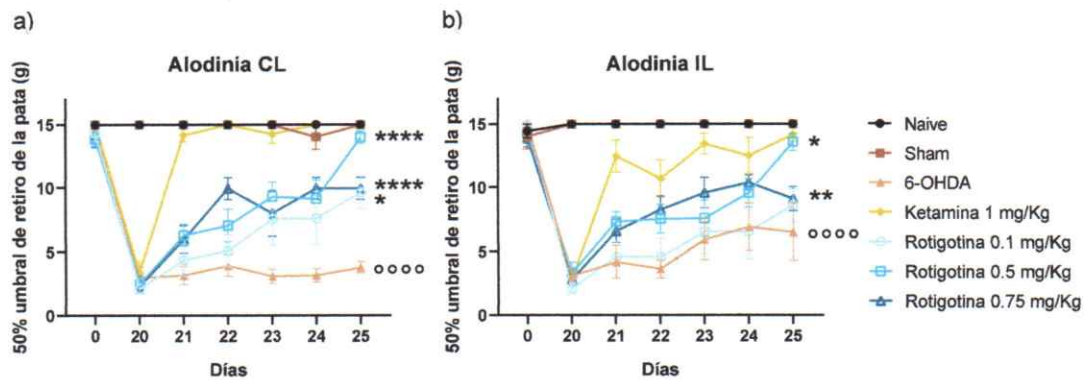


Figura 4. Efecto antialodínico inducido por la administración subaguda de rotigotina después de la lesión unilateral de 6-OHDA en la SNpc. a) Representa la respuesta de la extremidad posterior contralateral (CL) y b) la respuesta de la extremidad posterior ipsilateral (IL). Los resultados se expresaron como la media \pm E.E. para 6 animales en los grupos naive, sham, 6-OHDA y rotigotina 0.75 mg/Kg, para 8 animales en el grupo ketamina 1 mg/Kg, para 5 animales en el grupo rotigotina 0.1 mg/Kg y para 10 animales en el grupo rotigotina 0.5 mg/Kg, oooooP < 0.0001 en comparación con el grupo sham, *P < 0.05 y **P < 0.01 en comparación con el grupo 6-OHDA, ****P < 0.0001 en comparación con el grupo 6-OHDA (ANOVA de dos vías seguido de una prueba de Tukey).

DISCUSIÓN

En el presente estudio, se demostró el desarrollo de la EP en ratas inducida por la lesión unilateral con 6-OHDA en la SNpc mediante las pruebas conductuales de cilindro y apomorfina. La neurotoxina 6-OHDA causó la pérdida de neuronas dopaminérgicas en la SNpc, desencadenando un aumento significativo en el número de rotaciones contralaterales estimuladas por la apomorfina. Asimismo, la neurotoxina disminuyó significativamente el uso de la pata anterior contralateral durante la exploración en la prueba de cilindro, lo cual, confirma la EP. Este modelo de la EP en ratas genera alodinia táctil, reflejando síntomas de la enfermedad, como la disminución en la capacidad motora (Romero-Sánchez et al., 2020; Aguirre-Vidal et al., 2020).

La administración aguda y subaguda de rotigotina por vía intranasal demostró un efecto antialodínico, es decir, que la rotigotina puede revertir los síntomas de la alodinia táctil inducida por la lesión con 6-OHDA en la SNpc dependiendo de la dosis empleada. Los datos demostraron que la dosis de rotigotina de 0.5 y 0.75 mg/Kg no presentan diferencia significativa entre ellas, por lo que su efecto es similar (disminuyen la sensación), en cambio, la dosis de rotigotina 0.1 mg/Kg genera un efecto mínimo en comparación con las otras dosis empleadas en el estudio, ya que no presenta diferencia significativa en comparación con el grupo 6-OHDA.

Hasta el día de hoy, se han realizado distintos estudios del dolor en la EP tratado con rotigotina:

Kassubek y colaboradores (2014) evaluaron parches transdérmicos de rotigotina en pacientes con EP, la dosis que emplearon fue de 16 mg/14 h durante 4 semanas y evaluaron el síntoma de dolor con apoyo de la escala Likert calificando cualquier tipo de dolor y su intensidad, demostraron que la rotigotina disminuye la sensación de dolor mejorando la función motora durante las mañanas y/o alteraciones del sueño.

Adicionalmente, Timmermann y colaboradores (2017) evaluaron parches transdérmicos de rotigotina en pacientes con EP durante un periodo de exposición al fármaco de 72 ± 50 días, con un periodo de observación de 53 ± 36 días, la media de la dosis inicial fue de 3.2 ± 2.4 mg/24 h y la máxima fue de 5.7 ± 3.3 mg/24 h, el síntoma de dolor se evaluó con apoyo de la lista de descripción del dolor de 12 ítems del cuestionario alemán, los resultados evidenciaron una mejoría en la sensación de dolor de los pacientes tratados con el parche.

En otro estudio, Zhou y colaboradores (2013) evaluaron la eficacia y seguridad del parche transdérmico de rotigotina en comparación con placebo en pacientes con EP, el uso de rotigotina demostró una mejoría en la puntuación de actividades diarias en la Escala Unificada de Calificación de la EP, demostrando que la rotigotina disminuye los síntomas de la EP, sin embargo, en comparación con el placebo, la rotigotina se asocia a presencia de efectos adversos en la zona de aplicación del parche.

Por otro lado, se ha trabajado empleando microesferas de liberación prolongada de rotigotina, en este caso, evaluaron su efecto solo y su sinergismo con el fármaco celecoxib para el dolor inflamatorio en ratas, el modelo fue inducido con carragenina, las microesferas de rotigotina se administraron por vía intramuscular a una dosis de 40 mg/Kg, así mismo, se administraron 5 dosis a grupos diferentes de rotigotina por vía intramuscular y 5 dosis de celecoxib por vía oral para determinar la dosis efectiva 50 (3.9, 6.2, 10, 16, 25.4 y 40.7 mg/Kg y 12, 18, 27, 40.5 y 60.75 mg/Kg respectivamente). Además, se evaluó la respuesta de latencia de retiro de la pata trasera con estímulos térmicos y mecánicos cada hora durante 9 horas, los resultados demostraron que las microesferas de rotigotina aumentan la respuesta de retiro de la pata trasera y en conjunto con celecoxib produce un efecto atinocéptico. Asimismo, se encontró que la coadministración de rotigotina con celecoxib reduce la aparición de efectos adversos y, a su vez, disminuye el síntoma de dolor en pacientes con EP (Li, Zhang, Tian et al., 2020).

Siguiendo la misma línea de investigación Li, Wang, Wang y colaboradores (2021) demostraron que la coadministración de microesferas de rotigotina de liberación prolongada con paracetamol y/o tramadol incrementan el efecto antinociceptivo de rotigotina, generando efecto de tipo sinérgico en un modelo de dolor inflamatorio inducido con carragenina en rata.

Por ello, este estudio es el primero que demuestra efecto antialodínico, referente al dolor en el EP inducido en ratas, de rotigotina administrado por vía intranasal.

CONCLUSIÓN

Este estudio demostró que la lesión unilateral con 6-OHDA en la SNpc en ratas causa hipersensibilidad al dolor (alodinia), un síntoma de la EP y que el tratamiento con rotigotina disminuye los síntomas de la alodinia táctil, siendo útil empleado como tratamiento para el dolor en la EP.

REFERENCIAS

- Aguirre-Vidal, Y., Rodríguez-Ramos, C., Mendieta, L., Alonso Romero-Sánchez, H., Garza-Mouriño, G., Benítez-Díaz Mirón, M. I., Elena Castellanos-Páez, M., Pérez-Ramos, J., & Godínez-Chaparro, B. (2020). Synergistic antiallodynic and antihyperalgesic interaction between L-DOPA and celecoxib in parkinsonian rats is mediated by NO-cGMP-ATP-sensitive K⁺ channel. *European Journal of Pharmacology*, 889. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2020.173537>
- Alonso Cánovas, A., Luquin Piudo, R., García Ruiz-Espiga, P., Burguera, J. A., Campos Arillo, V., Castro, A., Linazasoro, G., López del Val, J., Vela, L., & Castrillo, J. C. M. (2014). Agonistas dopaminérgicos en la enfermedad de Parkinson. *Neurología*, 29(4), 230–241. <https://doi.org/10.1016/J.NRL.2011.04.012>
- Carretero Colomer, M. (2006). Rotigotina. *Offarm*, 25(9), 112–114. <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-rotigotina-13094161>
- Cortes-Altamirano, J. L., Reyes-Long, S., Bandala, C., Morraz-Varela, A., Bonilla-Jaime, H., & Alfaro-Rodríguez, A. (2022). Neuropathic Pain in Parkinson's Disease. *Neurology India*, 70(5), 1879. <https://doi.org/10.4103/0028-3886.359257>
- Ford, B. (2010). Pain in Parkinson's disease. *Movement Disorders*, 25(S1), S98–S103. <https://doi.org/10.1002/MDS.22716>
- Instituto Nacional de las Personas Adultas Mayores. (2019). Parkinson, segunda enfermedad neurodegenerativa más frecuente en personas mayores de 50 años. Gobierno de México. <https://www.gob.mx/inapam/es/articulos/parkinson-segunda-enfermedad-neurodegenerativa-mas-frecuente-en-personas-mayores-de-50-anos?idiom=es> *Pain a Symptom of Parkinson's Disease? | American Parkinson Disease Association*. (n.d.). Retrieved November 28, 2022, from <https://www.apdaparkinson.org/article/is-pain-a-symptom-of-parkinsons-disease/>
- Kassubek, J., Chaudhuri, K. R., Zesiewicz, T., Surmann, E., Boroojerdi, B., Moran, K., Ghys, L., & Trenkwalder, C. (2014). Rotigotine transdermal system and evaluation of pain in patients with Parkinson's disease: A post hoc analysis of the RECOVER study. *BMC Neurology*, 14(1). <https://doi.org/10.1186/1471-2377-14-42>

- Kulisevsky, J. (2022). Tratamiento farmacológico de los síntomas motores de la enfermedad de Parkinson: actualización y recomendaciones de un experto. *Revista de Neurología*, 75(s04), S1–S10. <https://doi.org/10.33588/rn.75s04.2022217>
- Li, T., Wang, L., Zhang, L., Li, B., Wang, D., Zhang, L., Wang, T., & Fu, F. (2021). Rotigotine-loaded microspheres exerts the antinociceptive effect via central dopaminergic system. *European Journal of Pharmacology*, 910, 174443. <https://doi.org/10.1016/J.EJPHAR.2021.174443>
- Li, T., Wang, T., Wang, L., Liu, R., Zhang, L., Zhai, R., & Fu, F. (2021). Antinociceptive effects of rotigotine-loaded microspheres and its synergistic interactions with analgesics in inflammatory pain in rats. *European Journal of Pharmacology*, 891(October 2020), 173693. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2020.173693>
- Li, K., Zhang, Y., Tian, E., Liu, Z., Wang, T., & Fu, F. (2020). The Effect of Rotigotine Extended-Release Microspheres Alone or With Celecoxib on the Inflammatory Pain. *Frontiers in Pharmacology*, 11. <https://doi.org/10.3389/FPHAR.2020.594387>
- Martínez-Fernández., R., Gasca-Salas C., C., Sánchez-Ferro, Á., & Ángel Obeso, J. (2016). Actualización en la Enfermedad de Parkinson. *Revista Médica Clínica Las Condes*, 27(3), 363–379. <https://doi.org/10.1016/J.RMCLC.2016.06.010>
- Mendieta, L., Bautista, E., Sánchez, A., Guevara, J., Herrando-Grabulosa, M., Moran, J., Martínez, R., Aguilera, J., & Limón, I. D. (2012). The C-terminal domain of the heavy chain of tetanus toxin given by intramuscular injection causes neuroprotection and improves the motor behavior in rats treated with 6-hydroxydopamine. *Neuroscience Research*, 74(2), 156–167. <https://doi.org/10.1016/J.NEURES.2012.08.006>
- Mylius, V., Möller, J. C., Bohlhalter, S., Ciampi de Andrade, D., & Perez Lloret, S. (2021). Diagnosis and Management of Pain in Parkinson's Disease: A New Approach. *Drugs & Aging* 2021 38:7, 38(7), 559–577. <https://doi.org/10.1007/S40266-021-00867-1>
- Mylius, V., Perez Lloret, S., Cury, R. G., Teixeira, M. J., Barbosa, V. R., Barbosa, E. R., Moreira, L. I., Listik, C., Fernandes, A. M., de Lacerda Veiga, D., Barbour, J., Hollenstein, N., Oechsner, M., Walch, J., Brugger, F., Hägele-Link, S., Beer, S., Rizos, A., Chaudhuri, K. R., ... Ciampi de Andrade, D. (2021). The Parkinson disease pain classification system: results from an international mechanism-based classification

approach. *Pain*, 162(4), 1201–1210.
<https://doi.org/10.1097/J.PAIN.0000000000002107>

Paxinos, G. y Watson, C. (2013). *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. 7° edición. Elsevier.

Rajendran, A., Reddy, A. J., Bisaga, K., Sommer, D. A., Prakash, N., Pokala, V. T., Yu, Z., Bachir, M., Nawathey, N., Brahmhatt, T., & Patel, R. (2023). *A Systematic Review of the Usage of Rotigotine During Early and Advanced Stage Parkinson's*.
<https://doi.org/10.7759/cureus.36211>

Rascol, O., Zesiewicz, T., Chaudhuri, K. R., Asgharnejad, M., Surmann, E., Dohin, E., Nilius, S., & Bauer, L. (2016). A Randomized Controlled Exploratory Pilot Study to Evaluate the Effect of Rotigotine Transdermal Patch on Parkinson's Disease-Associated Chronic Pain. *Journal of Clinical Pharmacology*, 56(7), 852–861.
<https://doi.org/10.1002/JCPH.678>

Romero-Sánchez, H. A., Mendieta, L., Austrich-Olivares, A. M., Garza-Mouriño, G., Benitez-Díaz Mirón, M., Coen, A., & Godínez-Chaparro, B. (2020). Unilateral lesion of the nigrostriatal pathway with 6-OHDA induced allodynia and hyperalgesia reverted by pramipexol in rats. *European Journal of Pharmacology*, 869, 172814.
<https://doi.org/10.1016/J.EJPHAR.2019.172814>

Rosenbaum, T., Morales-Lázaro, S. L., & Islas, L. D. (2022). TRP channels: a journey towards a molecular understanding of pain. *Nature Reviews. Neuroscience*, 23(10), 596–610. <https://doi.org/10.1038/S41583-022-00611-7>

Rotondo, J., Toro, M., Bolívar, M., Seijas, M. E., & Carrillo, C. (2019). Pain in Parkinson's disease. A look at a poorly known aspect of this disease. *Revista de La Sociedad Espanola Del Dolor*, 26(3), 184–198. <https://doi.org/10.20986/RESED.2019.3733/2019>

Secretaría de Salud. (2010). *Guía de Práctica Clínica gpc*. www.cenetec.salud.gob.mx

Timmermann, L., Oehlwein, C., Ransmayr, G., Fröhlich, H., Will, E., Schroeder, H., Lauterbach, T., Bauer, L., & Kassubek, J. (2017). Patients' perception of Parkinson's disease-associated pain following initiation of rotigotine: a multicenter non-interventional study. *Postgraduate Medicine*, 129(1), 46–54.
<https://doi.org/10.1080/00325481.2017.1258953>

- Trenkwalder, C., Kies, B., Rudzinska, M., Fine, J., Nikl, J., Honczarenko, K., Dioszeghy, P., Hill, D., Anderson, T., Myllyla, V., Kassubek, J., Steiger, M., Zucconi, M., Tolosa, E., Poewe, W., Surmann, E., Whitesides, J., Boroojerdi, B., & Chaudhuri, K. R. (2011). Rotigotine effects on early morning motor function and sleep in Parkinson's disease: A double-blind, randomized, placebo-controlled study (RECOVER). *Movement Disorders*, 26(1), 90–99. <https://doi.org/10.1002/MDS.23441>
- Wood, M., Dubois, V., Scheller, D., & Gillard, M. (2015). Rotigotine is a potent agonist at dopamine D1 receptors as well as at dopamine D2 and D3 receptors. *British Journal of Pharmacology*, 172(4), 1124–1135. <https://doi.org/10.1111/BPH.12988>
- Zhou C-Q, Li S-S, Chen Z-M, Li F-Q, Lei P, et al. (2013) Rotigotine Transdermal Patch in Parkinson's Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS ONE* 8(7): e69738. doi:10.1371/journal.pone.0069738