

Trasplante de células naturales 'dopaminotróficas': nuevo concepto terapéutico antiparkinsoniano

E. Fernández-Espejo, F. El Banoua, I. Caraballo, B. Galán, J.A. Flores

NATURAL 'DOPAMINOTROPHIC' CELL TRANSPLANT: A NEW CONCEPT IN ANTIPARKINSONIAN THERAPY

Summary. Aim and method. Parkinson's disease is caused by the degeneration of dopaminergic neurons of substantia nigra projecting to striatum. Cellular substitution represents a potentially treatment once beneficial levodopa effects wear off. A promising therapeutic approach is grafting cells or other vectors which release neuroprotective molecules that stimulate regeneration in the damaged nigrostriatal system or, in other words, that exert a dopaminotrophic action. We have tested the suitability of intrastriatal grafts of extra-adrenal chromaffin cells taken from the Zuckerkandl's organ. This paraganglion contains chromaffin cells that express and release glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) and transforming growth factor- β_1 (TGF- β_1), both known to protect dopamine cells in vitro and in vivo. Grafts induced a functional recovery of parkinsonian rats which developed over months. The beneficial effects of grafts of the Zuckerkandl's organ were related to long survival of grafted cells, striatal reinnervation, enhancement of dopamine levels in the host striatum, and the cell delivery into the host striatum of GDNF and TGF- β_1 . Conclusion. Our result should stimulate research on the clinical applicability of transplants of the Zuckerkandl's organ in Parkinson's disease. [REV NEUROL 2003; 36: 540-4]

Key words. Dopaminotrophism. GDNF. Parkinson disease. 6-OHDA. TGF- β_1 . Trophic factors.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Parkinson (EP) se debe a la pérdida selectiva de neuronas dopaminérgicas de la sustancia negra que proyectan principalmente al estriado dorsal (centro de control motor), lo que ocasiona un déficit grave en la concentración de dopamina en los ganglios basales. Esta alteración neuroquímica origina la sintomatología de la enfermedad, caracterizada por temblores, rigidez, acinesia, lentitud de movimientos espontáneos, desequilibrio y reflejos sensoriomotores disminuidos.

La EP es una de las enfermedades degenerativas de mayor prevalencia—afecta al 1% de la población mayor de 65 años—y fue descrita por James Parkinson en 1817. Su rasgo neuropatológico característico es la presencia de cuerpos de Lewy en la sustancia negra, junto con una pérdida de neuronas dopaminérgicas superior al 80%. La causa se desconoce, aunque se aceptó que hay un componente genético.

El tratamiento farmacológico más eficaz es la administración oral de levodopa, un precursor que se convierte en dopamina en el cerebro gracias a las neuronas dopaminérgicas nigricas que aún sobreviven (y probablemente la glía). Este fármaco in-

duce una espectacular mejoría y es especialmente efectivo, administrado junto a carbidopa, que mejora su eficacia, para tratar la acinesia y la rigidez en estadios iniciales e intermedios de la EP. Sin embargo, a largo plazo aparecen complicaciones, como discinesias y episodios *on-off*, y el fármaco no es eficaz en estadios avanzados de la enfermedad. Por este motivo, actualmente se buscan nuevas terapias alternativas. Entre ellas destacaremos las técnicas de sustitución celular, en concreto los trasplantes intracerebrales de células secretoras de dopamina o de moléculas neuroprotectoras.

TRASPLANTE DE CÉLULAS SECRETORAS DE DOPAMINA

Es razonable pensar que, si la levodopa mejora de modo significativo el déficit funcional en la EP, el trasplante de células secretoras de dopamina podría aportar una fuente constante de dopamina tan eficiente como la administración de levodopa. A este respecto, se sabe que los trasplantes intraestriatales de células secretoras de dopamina obtenidas de tejido nervioso o cromafín, como las células mesencefálicas fetales, las células de médula adrenal o las células glómicas, mejoran la sintomatología parkinsoniana en modelos animales de EP [1-5]. Sin embargo, su empleo clínico está restringido a pocos casos—en entredicho—o se ha abandonado.

En los ensayos clínicos, las células mesencefálicas fetales tomadas de embriones abortados pueden sobrevivir y funcionar en el cerebro de pacientes de EP [6,7], y muchos de los pacientes trasplantados muestran una mejoría funcional; pero hay destacados factores limitantes respecto a este tipo de trasplante, como son la necesidad de una terapia inmunosupresora para disminuir el rechazo y los problemas éticos, prácticos y de seguridad derivados del uso de embriones abortados humanos, así como la dificultad de obtener un número abundante de células viables [8,9]. Además, recientemente se detectó el desarrollo de discinesias graves en un cierto porcentaje de pacientes trasplantados que

Recibido: 19.12.02. Aceptado tras revisión externa sin modificaciones: 19.02.03.

Departamento de Fisiología Médica y Biofísica. Universidad de Sevilla, Sevilla, España.

Correspondencia: Dr. E. Fernández Espejo. Departamento de Fisiología Médica. Facultad de Medicina. Universidad de Sevilla. Av. Sánchez Pizjuán, 4. E-41009 Sevilla. E-mail: efespejo@us.es

Agradecimientos. A los Drs. Javier de Felipe, Jon Arellano (Madrid) y Ana Fernández Rodríguez (Sevilla), por su ayuda morfológica; a la Dra. Julia García-Hirschfield (Valencia), por la generosa entrega de material de laboratorio; al Dr. Javier Miñano (Sevilla), por sus mediciones de HPLC, y al Sr. Antonio León (Sevilla), por su labor técnica.

Investigación subvencionada a EFE por el Ministerio de Educación y Cultura (PM98-015), el Plan Andaluz de Investigación (CVI-127) y los Laboratorios Dr. Esteve.

© 2003, REVISTA DE NEUROLOGÍA

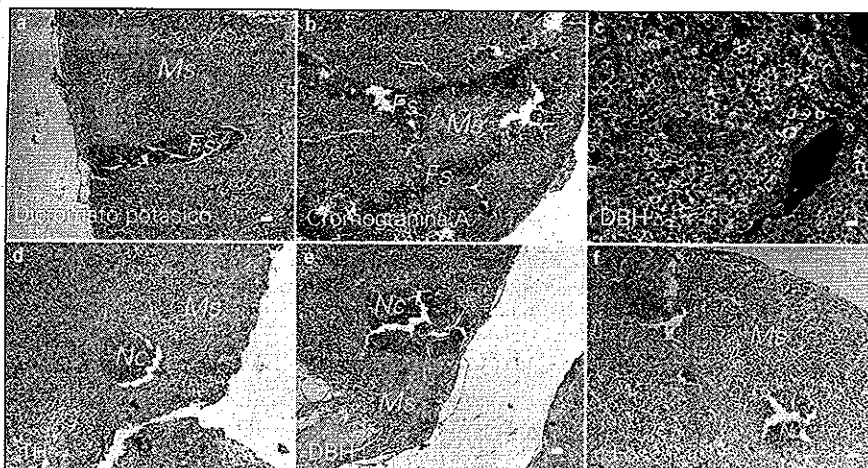


Figura 1. Características morfológicas del paraganglio de Zuckerlandl y de sus células cromafines. Como se muestra en las secciones de inmunohistoquímica (a, b, d-f), las células cromafines se distribuyen en fascículos rodeados por mesénquima (Ms) en los cortes longitudinales (Fs); en los cortes coronales presentan aspecto de 'nidos' celulares (Nc). Las células cromafines reaccionan con dicromato potásico (a), y expresan cromogranina A (b), tirosina-hidroxilasa (d), dopamina- β -hidroxilasa (e) y c-Fos (f). Como contraindicación de la inmunohistoquímica se empleó la hematoxilina-eosina. La imagen de inmunofluorescencia (c) representa un nido celular de células cromafines, con su característica morfología redondeada, positivas a dopamina- β -hidroxilasa. Barra: 100 μ m en a, b, d, e; 25 μ m en c.

no habían sido tratados con levodopa (15% del grupo de trasplantados de la cohorte de Denver/Nueva York) [10]. Estas discinesias parecen ser debidas a un desequilibrio en la recuperación focalizada del tono dopaminérgico intraestriatal entre distintos puntos de trasplante, sin asociarse a una hiperproducción de dopamina [11]. Esto hace realmente complicada la terapia basada en trasplantes de células secretoras de dopamina.

Por otra parte, las células de la médula adrenal fueron las primeras empleadas a nivel de ensayo preclínico y clínico, pero su uso se ha abandonado porque, aunque inducen una mejoría temporal, no sobreviven a largo plazo tras el trasplante (incluso tras autotrasplantes), ni en los modelos animales ni en los pacientes de EP [12]. Los efectos a nivel clínico del trasplante de células glómicas de cuerpo carotídeo están en fase experimental. Una ventaja de estas células es que sobreviven en alto número al trasplante y se pueden emplear para autotrasplantes, con lo que se obvia el rechazo del tejido y la terapia inmunosupresora. Sin embargo, su eficacia puede verse limitada por los efectos comentados debidos a la focalización en los trasplantes de células secretoras de dopamina.

TRASPLANTE DE VECTORES 'DOPAMINOTRÓFICOS': CÉLULAS CROMAFINES EXTRADRENALES COMO VECTORES

La naturaleza progresiva de la neurodegeneración en la EP permite realizar intervenciones terapéuticas con el fin de detener o retrasar el proceso, o incluso estimular la regeneración y restaurar la función. Así pues, otra estrategia terapéutica de trasplante es introducir en el estriado moléculas potencialmente neuroprotectoras sobre el circuito nigroestriado, es decir, que ejerzan una acción dopaminotrófica. Entre estas moléculas neuroprotectoras, el factor neurotrófico derivado de glía (GDNF) y el factor neurotrófico derivado de cerebro (BDNF) poseen potentes efectos *in vivo* e *in vitro* sobre neuronas dopaminérgicas [13-16]. Se han obtenido resultados muy prometedores con fibroblastos modificados genéticamente para que segreguen GDNF [14,17] o BDNF

[18,19], así como con vectores virales que expresan GDNF [20,21]. Los efectos neuroprotectores *in vivo* permiten el 'rescate' de un 40 a un 70% de las células nigricas dopaminérgicas [9]. El factor transformante de crecimiento β_1 (TGF- β_1) es otro factor trófico que ha demostrado proteger las neuronas dopaminérgicas *in vitro* [19,22] del que se sabe que es un cofactor que potencia la actividad de GDNF tanto *in vitro* como *in vivo* [23,24].

Es de destacar que los efectos antiparkinsonianos de los trasplantes celulares cromafines adrenales son debidos no sólo a la liberación de dopamina de las células, sino a la reinervación dopaminérgica del estriado denervado [2,4,5,8,25], y se sabe que las células cromafines expresan y liberan GDNF y TGF- β_1 [26-28]. Por tanto, las células adrenales también actúan como células dopaminotróficas que inducen la arborización de las neuronas supervivientes dopaminérgicas, dando lugar a una reinervación del estriado dañado.

Considerando las potenciales propiedades neurorestauradoras de las células cromafines, en nuestro laboratorio se ha trabajado, por primera vez, con un tipo celular cromafín perteneciente al tejido extradrenal. Concretamente, se han empleado células procedentes del paraganglio de Zuckerlandl, que es el paraganglio extradrenal de mayor tamaño [29], localizado en la aorta abdominal baja y fácil de extraer [30,31]. Hemos demostrado que el trasplante intraestriatal de células cromafines extradrenales del paraganglio de Zuckerlandl induce una mejoría funcional progresiva en ratas parkinsonianas, y que estas células presentan una supervivencia a largo plazo, al contrario que las células cromafines adrenales [32].

CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS Y FISIOLÓGICAS DEL PARAGANGLIO DE ZUCKERKANDL

El paraganglio de Zuckerlandl se localiza en los mamíferos junto a la aorta abdominal, entre la salida de la arteria mesentérica inferior y las ilíacas. En los humanos hay dos paraganglios, aunque se ha descrito la presencia de paraganglios accesorios [30]. En la rata suele existir un solo paraganglio, aunque no es raro encontrar también paraganglios accesorios, y su tamaño oscila entre 4 y 8 mm, con un volumen medio estimado de $9,5 \pm 1,1$ mm³ [32]. Está compuesto de tejido mesenquimatoso y tejido cromafín, y por tanto pertenece a la familia de paraganglios extraadrenales cromafines con mesénquima [30]. El tejido cromafín forma fascículos orientados en el eje longitudinal, que adoptan la apariencia de 'nidos' celulares redondeados en cortes coronales (Fig. 1). El volumen medio del tejido cromafín representa el 22% del paraganglio de Zuckerlandl en ratas [32].

Como células cromafines típicas, las del paraganglio de Zuckerlandl reaccionan con el dicromato potásico (reacción de Orth), y en ellas se detecta la presencia de cromogranina A, una proteína que participa en la exocitosis y es muy abundante en las células de la estirpe cromafín (Fig. 1). Las células cromafines poseen una morfología típica redondeada y su diámetro oscila entre 15 y 25



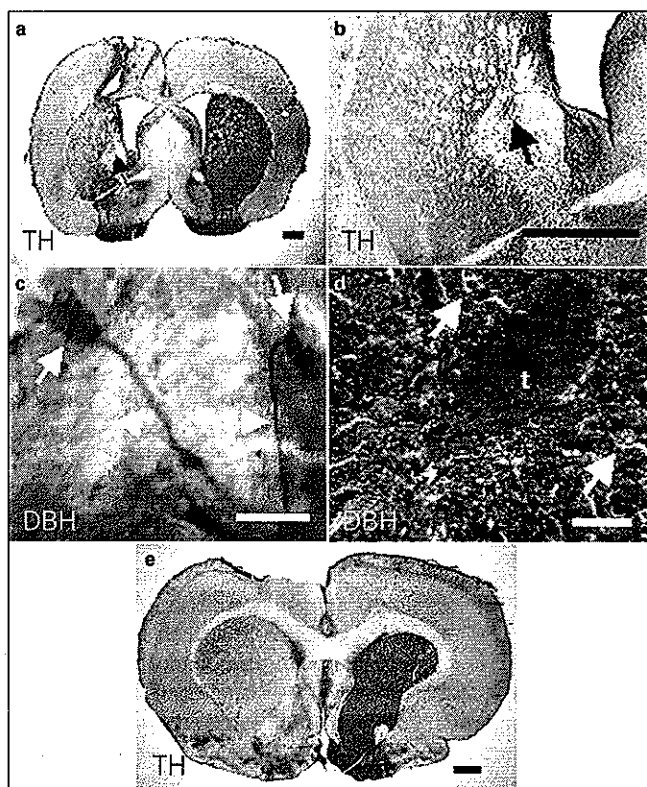


Figura 2. Características morfológicas de un trasplante de 5 meses de paraganglio de Zuckerkandl en una rata parkinsoniana. a y b) Secciones coronales de inmunohistoquímica del estriado, donde se observa un trasplante positivo a TH (flecha) en el estriado lesionado así como una clara zona de reinervación estriatal —compárese con la imagen en e) del estriado lesionado sin trasplante—. c) Mayor ampliación del trasplante, donde se observan células cromafines positivas a DBH (flechas) con largas prolongaciones neuríticas (puntas de flecha). d) Imagen de fluorescencia confocal de un trasplante con células positivas a DBH (flechas) y numerosas prolongaciones neuríticas que salen del trasplante hacia el estriado hospedador. e) Sección coronal del estriado de una rata parkinsoniana sin trasplante, donde la pérdida de señal de TH en el estriado lesionado (izqda.) es neta respecto al estriado contralateral, no lesionado. t: trasplante. Barras: 1 mm en a, b y e; 100 μ m en c; 50 μ m en d.

micras. Estas células expresan tirosina-hidroxilasa (TH), la enzima sintetizadora de dopamina, así como dopamina- β -hidroxilasa (DBH), la enzima sintetizadora de noradrenalina, como revelan técnicas de inmunohistoquímica e inmunofluorescencia (Fig. 1). La inmunofluorescencia confocal indica que las células son TH+/DBH+ (Fig. 1), y que no hay células dopaminérgicas (TH+/DBH-). Otros autores han demostrado que estas células no expresan feniletanolamina-N-metil-transferasa (PNMT), la enzima sintetizadora de adrenalina [31]. En conclusión, las células extradrenales del paraganglio de Zuckerkandl son noradrenérgicas.

Desde un punto de vista fisiológico, el paraganglio de Zuckerkandl es una fuente secundaria de noradrenalina circulante (la primaria es la médula adrenal). Destaca su actividad principalmente en situaciones de estrés [29]. Se ha calculado que un 20% de la noradrenalina circulante basal procede de fuentes extradrenales y que, por ejemplo, el paraganglio de Zuckerkandl contribuye al 50% de la noradrenalina circulante tras el nacimiento, una situación estresante para el recién nacido. Hemos observado que, tras situaciones de estrés en ratas (inmovilización, cirugía), las células del paraganglio de Zuckerkandl son activas *in vivo*, pues expresan c-Fos, un factor de transcripción temprano que indica expresión génica y activación celular (Fig. 1).

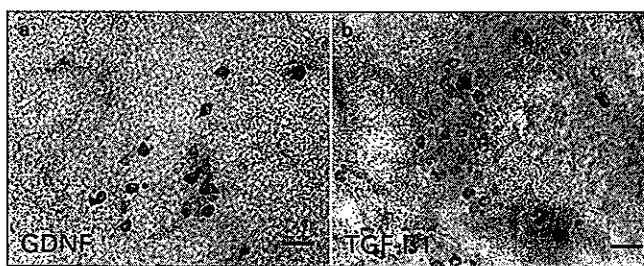


Figura 3. Imágenes inmunohistoquímicas tras marcaje de GDNF y TGF- β_1 en trasplantes del paraganglio de Zuckerkandl a los 5 meses tras el trasplante, en las que se muestra la presencia de células positivas a GDNF (a) y TGF- β_1 (b). Barras: 50 μ m.

REGENERACIÓN FUNCIONAL DE RATAS PARKINSONIANAS TRAS EL TRASPLANTE DE CÉLULAS CROMAFINES DEL PARAGANGLIO DE ZUCKERKANDL: PAPEL DEL GDNF Y TGF- β_1

En nuestro laboratorio se ha investigado sobre la eficacia anti-parkinsoniana potencial del trasplante de células cromafines del paraganglio de Zuckerkandl en ratas parkinsonianas, tras lesión unilateral de la sustancia negra. Este modelo animal remeda bastante bien al humano y se emplea en numerosos laboratorios para ensayar los efectos antiparkinsonianos de trasplantes neurales y paraneurales, moléculas neuroprotectoras y nuevos fármacos. En este modelo se induce un síndrome hemiparkinsoniano con asimetría motora, déficit sensoriomotor, acinesia y menor destreza manual [33,34]. Las ratas se hacen parkinsonianas por medio de la inyección estereotóxica de 6-hidroxidopamina en la sustancia negra izquierda, un tóxico que destruye las neuronas dopaminérgicas (Fig. 2e). Los animales que muestren un giro homolateral a la lesión superior a 420 giros/hora tras la inyección de amfetamina se eligen para el estudio, pues este grado de giro indica una lesión de la sustancia negra superior al 85% [33,34]. Las ratas se trasplantaron con agregados de células extradrenales en el estriado lesionado [4,5,35]. El número estimado de células cromafines trasplantadas fue 3.466 ± 213 [32].

Las ratas trasplantadas mostraron una recuperación funcional significativa desde uno hasta cinco meses tras el trasplante, manifestada por una progresiva reducción en el giro inducido por amfetamina y en los déficit sensoriomotrices, así como por una mejoría en la destreza manual. Estos efectos funcionales se acompañaron de una supervivencia del 13% de las células trasplantadas al mes y a los cinco meses tras el trasplante, un dato interesante que indica que las células que sobrevivieron inicialmente al trasplante sobrevivieron luego durante un mayor periodo de tiempo, lo que las hace apropiadas para el trasplante celular a largo plazo. La inmunohistoquímica reveló la presencia de células cromafines TH+ y DBH+ en el trasplante, con largas prolongaciones neuríticas (Fig. 2). Además, se detectó un aumento en la densidad TH del estriado huésped, indicativa de reinervación dopaminérgica (Fig. 2), así como un incremento de la tasa de dopamina estriatal (46%). Este último hecho fue el que, seguramente, causó la mejoría funcional, pues ésta depende de la concentración de dopamina en el estriado dorsal [35-37]. El aumento del contenido en dopamina estriatal no se puede explicar por la liberación de dopamina desde las células trasplantadas, pues estas son noradrenérgicas y se sabe que las células cromafines noradrenérgicas sólo liberan pequeñas canti-

dades
a un
cuenc
vivier
desar
los ci
L
célula
más, s
rotrofi
crónic
factor
de la c
[13-21
factor
ventaj
kandl
acción
GDNF
res, co
zan el
croma

1. B...
- in...
- al...
2. B...
- er...
- 91...
3. G...
- R...
- or...
- Es...
4. E...
- fu...
- ti...
5. L...
- al...
- ca...
6. L...
- so...
7. O...
- th...
8. U...
- te...
9. B...
- kin...
10. F...
- al...
- so...
11. M...
- ky...
- An...
12. Y...
- ea...
13. L...
- lir...
- Sc...
14. T...
- Pr...
- in...
15. B...
- M...
- m...
16. G...
- ati...
17. T...
- in...
- by...
- 17

dades de dopamina [38-40]. Los resultados se explican gracias a un aumento del tono dopaminérgico estriatal, como consecuencia de la arborización de las fibras dopaminérgicas supervivientes a la lesión y de la reinervación. Esto explicaría el desarrollo progresivo y gradual de la mejoría funcional durante los cinco meses de estudio.

Los datos inmunohistoquímicos también revelaron que las células del trasplante expresaban GDNF y TGF- β_1 (Fig. 3). Además, se detectó un aumento de los niveles de estos factores neurotróficos en el tejido estriatal, indicando que hubo una liberación crónica de los mismos tras el trasplante. GDNF y TGF- β_1 son factores neurotróficos que protegen las neuronas dopaminérgicas de la degeneración tanto *in vitro* como *in vivo* en modelos de EP [13-21]. Por tanto, las propiedades neurorestauradoras de ambos factores explicarían la reinervación estriatal observada. Una clara ventaja de las células extradrenales del paraganglio de Zuckerkandl es su larga supervivencia, lo que les permite ejercer una acción dopaminotrófica mantenida basada en la liberación de GDNF y TGF- β_1 , y, probablemente, otros agentes neuroprotectores, como neuropéptidos y citocinas [41]. Estos resultados refuerzan el valor terapéutico potencial de los trasplantes de células cromafines del paraganglio de Zuckerkandl.

CONCLUSIONES Y EXPECTATIVAS

Nuestro estudio revela que los trasplantes intracerebrales de células del paraganglio de Zuckerkandl, un órgano extradrenal, inducen una mejoría progresiva y sostenida de los déficit funcionales en ratas parkinsonianas. Los efectos funcionales de los trasplantes se acompañan de supervivencia a largo plazo de las células trasplantadas, reinervación estriatal, incremento de la concentración de dopamina en el estriado huésped y liberación de los factores neurotróficos GDNF y TGF- β_1 . Estos factores poseen capacidad neurorestauradora sobre las neuronas dopaminérgicas, lo que explicaría la regeneración tisular. Así, las células trasplantadas actuarían como vectores dopaminotróficos que inducen la arborización de las células nigricas dopaminérgicas supervivientes y la reinervación tisular y representan una nueva estrategia terapéutica para el tratamiento de la enfermedad de Parkinson. Este trabajo debería estimular la posible aplicación clínica de este tipo de trasplante en el ser humano. En este caso, una ventaja adicional es que hay dos paraganglios de Zuckerkandl en el ser humano, lo que permite resear sólo uno para autotrasplante y evitar de este modo tanto los posibles efectos secundarios de su extirpación como la necesidad de inmunosupresión para prevenir el rechazo.

BIBLIOGRAFIA

- Bolam JP, Freund TF, Björklund A, Dunnett SB, Smith AD. Synaptic input and local output of dopaminergic neurons in grafts that functionally reinnervate the host striatum. *Exp Brain Res* 1987; 68: 131-46.
- Bohn MC, Cupit LC, Marciano F, Gash DM. Adrenal medullary grafts enhance recovery of striatal dopaminergic fibers. *Science* 1987; 237: 913-6.
- Goetz CG, Stebbins GT, Klawans HL, Holler WC, Grossman RG, Bakay RA et al. United Parkinson Foundation neurotransplantation registry on adrenal medullary transplants presurgical, and 1-year and 2-year follow-up. *Neurology* 1991; 41: 1719-22.
- Espejo EF, Montoro RJ, Armengol JA, López-Barneo J. Cellular and functional recovery of parkinsonian rats after intrastriatal transplantation of carotid body cell aggregates. *Neuron* 1998; 20: 197-206.
- Luquin MR, Montoro RJ, Guillén J, Saldise L, Insausti R, Del Río J et al. Recovery of chronic parkinsonian monkeys by autotransplants of carotid body cell aggregates into putamen. *Neuron* 1991; 22: 743-50.
- Lindvall O. Neural transplantation: a hope for patients with Parkinson's disease? *NeuroReport* 1997; 8: iii-x.
- Olanow CW, Freeman TB, Kordower JH. Neural transplantation as a therapy for Parkinson's disease. *Adv Neurol* 1997; 74: 246-69.
- Dunnett SB, Björklund A. Prospects for new restorative and neuroprotective treatments in Parkinson's disease. *Nature* 1999; 399: A32-9.
- Brundin P, Hagell P. The neurobiology of cell transplantation in Parkinson's disease. *Clin Neurosci Res* 2001; 1: 507-20.
- Freed CR, Greene PR, Breeze RE, Tsai WY, DuMouchel W, Kao R, et al. Transplantation of embryonic dopamine neurons for severe Parkinson's disease. *N Engl J Med* 2001; 344: 710-9.
- Ma Y, Feigin A, Dhawan V, Fukuda M, Shi Q, Greene P, et al. Dyskinesia after fetal cell transplantation for parkinsonism: a PET study. *Ann Neurol* 2002; 52: 628-34.
- Yurek DM, Sladek JR. Dopamine cell replacement: Parkinson's disease. *Annu Rev Neurosci* 1990; 13: 415-40.
- Lin LF, Doherty DH, Lile JD, Bektesh S, Collins F. GDNF: a glial cell line-derived neurotrophic factor for midbrain dopaminergic neurons. *Science* 1993; 260: 1130-2.
- Tomac A, Lindqvist E, Lin LF, Ogren SO, Young D, Hoffer BJ et al. Protection and repair of the nigrostriatal dopaminergic system by GDNF *in vivo*. *Nature* 1995; 373: 335-9.
- Beck KD, Valverde J, Alexi T, Poulsen K, Moffat B, Vandlen RA et al. Mesencephalic dopaminergic neurons protected by GDNF from axotomy-induced degeneration in the adult brain. *Nature* 1995; 373: 339-41.
- Gash DM, Zhang ZM, Gerhardt G. Neuroprotective and neurorestorative properties of GDNF. *Ann Neurol (suppl)* 1998; 44: S121-5.
- Tseng JL, Baetge EE, Zurn AD, Aebischer P. GDNF reduces drug-induced rotational behavior after medial forebrain bundle transection by a mechanisms not involving striatal dopamine. *J Neurosci* 1997; 17: 325-33.
- Levivier M, Przedborski S, Benesics C, Kang U. Intrastriatal transplantation of fibroblasts genetically engineered to produce brain-derived neurotrophic factor prevents degeneration of dopaminergic neurons in a rat model of Parkinson's disease. *J Neurosci* 1995; 15: 7810-20.
- Frim DM, Uhler TA, Galpern WR, Beal MF, Breakfield XO, Isacson O. Implanted fibroblasts genetically engineered to produce brain derived neurotrophic factor prevent 1-methyl-4-phenylpyridinium toxicity to dopaminergic neurons in the rat. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 5104-8.
- Mandel RJ, Spratt SK, Snyder RO, Leff SE. Midbrain injection of recombinant adeno-associated virus encoding rat glial cell line-derived neurotrophic factor protects nigral neurons in a progressive 6-hydroxydopamine-induced degeneration model of Parkinson's disease in rats. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 14083-8.
- Kirik D, Rosenblad C, Björklund A, Mandel RJ. Long-term rAAV-mediated gene transfer of GDNF in the rat Parkinson's model: intrastriatal but not intranigral transduction promotes functional regeneration in the lesioned nigrostriatal system. *J Neurosci* 2000; 20: 4686-700.
- Unsicker K, Suter-Crazzolaro C, Krieglstein K. Growth factor function in the development and maintenance of midbrain dopaminergic neurons: concepts, facts and prospects for TGF- β . *Ciba Foundation Symposium* 1996; 96: 70-80.
- Krieglstein K, Henheik P, Farkas L, Jaszai J, Galter D, Krohn K et al. Glial cell line-derived neurotrophic factor requires transforming growth factor-beta for exerting its full neurotrophic potential on peripheral CNS neurons. *J Neurosci* 1998; 18: 9822-34.
- Schober A, Hertel R, Arumae U, Farkas L, Jaszai J, Krieglstein K et al. Glial cell line-derived neurotrophic factor rescues target-deprived sympathetic spinal cord neurons but requires transforming growth factor-beta as cofactor *in vivo*. *J Neurosci* 1999; 19: 2008-15.
- Freed WJ, Morihisa JM, Spoor E, Hoffer BJ, Olson L, Seiger A, Wyatt RJ. Transplanted adrenal chromaffin cells in rat brain reduce lesion-induced rotational behavior. *Nature* 1981; 292: 351-2.
- Unsicker K, Krieglstein K. Bovine chromaffin cells release a transforming growth factor-beta-like molecule contained within chromaffin granules. *J Neurochem* 1995; 65: 1423-6.
- Unsicker K, Krieglstein K. Growth factors in chromaffin cells. *Prog Neurobiol* 1996; 48: 307-24.
- O'Connor DT. Chromaffin cell mechanisms: understanding catecholamine storage and release. *Trends Pharmacol Sci* 1999; 20: 431-2.
- Ahonen M, Soinila S, Joh TH. Pre- and postnatal development of rat retroperitoneal paraganglia. *J Auton Nerv Syst* 1987; 18: 11-120.
- Testut L, Latarjet A. Tratado de anatomía humana. Barcelona: Salvat, 1978.
- Bohn MC, Goldstein M, Black IB. Expression of phenylethanolamine N-methyltransferase in rat sympathetic ganglia and extra-adrenal chromaffin tissue. *Develop Biol* 1982; 89: 299-308.

32. Espejo EF, González-Albo MC, Moraes JP, El Banoua F, Flores JA, Caraballo I. Functional regeneration in a rat Parkinson's model after intrastriatal grafts of GDNF and TGF- β_1 -expressing extra-adrenal chromaffin cells of the Zuckerkandl's organ. *J Neurosci* 2001; 21: 9888-95.

33. Fornaguera J, Carey RJ, Huston JP, Schwarting RKW. Behavioral asymmetries and recovery in rats with different degrees of unilateral striatal dopamine depletion. *Brain Res* 1994; 664: 178-88.

34. Schwarting RKW, Huston JP. The unilateral 6-hydroxydopamine lesion model in behavioral brain research: analysis of functional deficits, recovery and treatments. *Prog Neurobiol* 1996; 50: 275-331.

35. Björklund A, Dunnett SB, Stenevi U, Lewis ME, Iversen SD. Reinnervation of the denervated striatum by substantia nigra transplants: functional consequences as revealed by pharmacological and sensorimotor testing. *Brain Res* 1980; 199: 307-33.

36. Brundin P, Strecker RE, Lodos E, Björklund A. Dopamine neurons

grafted unilaterally to the nucleus accumbens affect drug-induced circling and locomotion. *Exp Brain Res* 1987; 69: 183-94.

37. Brundin P, Karlsson J, Emgård M, Kaminski Schierle GS, Hansson O, Petersen A et al. Improving the survival of grafted dopaminergic neurons: a review over current approaches. *Cell Transpl* 2000; 9: 179-95.

38. Lyon RA, Titeler M, Bigornia L, Schneider AS. D2 dopamine receptors on bovine chromaffin cell membranes: identification and characterization by [3 H]N-methylspiperone binding. *J Neurochem* 1987; 48: 631-5.

39. Missale C, Castelletti L, Memo M, Carruba MO, Spano PF. Identification of postsynaptic D1 and D2 dopamine receptors in cardiovascular system. *J Cardiovasc Pharmacol* 1988; 11: 643-50.

40. Pupilli C, Lanzillotti R, Fiorelli G, Selli C, Gómez RA, Carey RM, Serio M, Mannelli M. Dopamine D2 receptors gene expression and binding sites in adrenal medulla and pheochromocytoma. *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 79: 56-61.

41. Unsicker K. The trophic cocktail made by adrenal chromaffin cells. *Exp Neurol* 1993; 123: 167-73.

TRASPLANTE DE CÉLULAS NATURALES 'DOPAMINOTRÓFICAS': NUEVO CONCEPTO TERAPÉUTICO ANTIPARKINSONIANO

Resumen. Objetivo y desarrollo. La enfermedad de Parkinson se debe a la degeneración de las neuronas dopaminérgicas de la sustancia negra que proyectan a los ganglios basales. La sustitución celular es un tratamiento potencial una vez que los efectos beneficiosos de la levodopa desaparecen. Una terapia prometedora es el trasplante de células u otros vectores, que segreguen moléculas neuroprotectoras capaces de estimular la regeneración del circuito nigroestriatal dañado o, en otras palabras, que ejerzan una acción dopaminotrófica. En mi laboratorio se ha ensayado en ratas parkinsonianas con células cromafines extraadrenales obtenidas del paraganglio de Zuckerkandl. Estas células expresan los factores neurotróficos GDNF y TGF- β_1 , ambos protectores de neuronas dopaminérgicas tanto in vitro como in vivo. Los trasplantes indujeron en las ratas una notable mejoría funcional que evolucionó durante meses. Los efectos funcionales se asociaron a una larga supervivencia de las células trasplantadas, reinnervación estriatal, incremento de los niveles de dopamina en el estriado hospedador y liberación de los factores GDNF y TGF- β_1 por las células cromafines trasplantadas. Conclusión. Este resultado debería estimular el ensayo de la posible aplicación clínica del trasplante de células cromafines extraadrenales del paraganglio de Zuckerkandl en la enfermedad de Parkinson. [REV NEUROL 2003; 36: 540-4] **Palabras clave.** Dopaminotrofismo. Enfermedad de Parkinson. Factores tróficos. GDNF. 6-OHDA. TGF- β_1 .

TRANSPLANTE DE CÉLULAS NATURAIS 'DOPAMINOTRÓFICAS': NOVO CONCEITO TERAPÉUTICO ANTIPARKINSONIANO

Resumo. Objetivo e desenvolvimento. A doença de Parkinson deve-se à degeneração dos neurónios dopaminérgicos na substância negra que projectam para os gânglios da base. A substituição celular é um tratamento potencial, uma vez que os efeitos benéficos da levodopa desaparecem. Uma terapêutica prometedora é o transplante de células ou de outros vectores, que segreguem moléculas neuroprotectoras que estimulem a regeneração do circuito nigroestriatal danificado ou, por outras palavras, que exerçam uma acção dopaminotrófica. No meu laboratório foi ensaiado em ratos parkinsonianos, com células obtidas do paragânglio de Zuckerkandl, que contêm células cromafinas extra-adrenais, as quais expressam os factores neurotróficos GDNF e TGF- β_1 , ambos protectores dos neurónios dopaminérgicos tanto in vitro como in vivo. Os transplantes induziram uma notável melhoria funcional nos ratos, que evoluiu durante meses. Os efeitos funcionais foram associados a uma longa sobrevivência de células transplantadas, reinnervação estriatal, incremento dos níveis de dopamina no estriado hóspede e libertação dos factores GDNF e TGF- β_1 pelas células cromafinas, transplantadas. Conclusão. Este resultado deveria estimular o ensaio da possível aplicação clínica do transplante de células cromafinas extra-adrenais do paragânglio de Zuckerkandl na doença de Parkinson [REV NEUROL 2003; 36: 540-4] **Palavras chave.** Doença de Parkinson. Dopaminotrofismo. Factores tróficos. GDNF. 6-OHDA. TGF- β_1 .