

## LA ENFERMEDAD DE PARKINSON

La enfermedad de Parkinson es un trastorno neurodegenerativo que se asocia histológicamente a la pérdida de neuronas dopaminérgicas en la sustancia negra y afecta al 1% de la población mayor de 65 años. Su causa es desconocida y origina invalidantes trastornos motores que desembocan a largo plazo en incapacidad motora, encamamiento, demencia y muerte por infecciones recurrentes. Los síntomas motores propios de la enfermedad son rigidez muscular, hipertonia, dificultad en iniciar los movimientos (acinesia), lentitud de movimientos (bradicinesia), pobre expresión facial (animia), temblor en reposo, etc. Los reflejos sensoriomotores se encuentran también gravemente afectados. La sintomatología de la enfermedad aparece cuando la pérdida neuronal en la sustancia negra supera el 85%. Por tanto, se cree que evoluciona a lo largo de la vida y que existen mecanismos compensadores que retrasan la aparición de la sintomatología. De hecho, en las neuronas dopaminérgicas de la sustancia negra aparecen depósitos anormales, tales como los cuerpos de Lewy, que indican un proceso neurodegenerativo progresivo.

## TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO DE LA ENFERMEDAD DE PARKINSON

En los años setenta se descubrió el efecto beneficioso, espectacular, de la levodopa (L-dopa) en la enfermedad de Parkinson. La levodopa es la molécula precursora de la dopamina y, a diferencia de ésta, puede atravesar la barrera hematoencefálica y ser captada por las terminaciones neuronales que aún quedan en el estriado (y probablemente la glia), las cuales la transforman en dopamina. Por tanto, el déficit dopaminérgico intraestriatal se ve muy compensado. La gran mejoría se explica por el hecho de que la dopamina actúa como un neuromodulador, que confiere un "tono" al tejido estriatal, más que como neurotransmisor rápido a nivel sináptico. Actualmente la levodopa se asocia a otros fármacos que mejoran su biodisponibilidad. Así, se hace uso de inhibidores periféricos de las enzimas L-dopa descarboxilasa y de la catecol-O-metilasa, que activan la levodopa circulante convirtiéndola en dopamina y 3-O-metildopa, de modo que su inhibición farmacológica facilita que una mayor cantidad de levodopa alcance el tejido cerebral. También se emplean neuroprotectores como la selegilina que se cree retrasan el deterioro neuronal, o fármacos agonistas dopaminérgicos, para reducir la dosis de levodopa, y anticolinérgicos, pues existe una hiperactividad colinérgica en el estriado parkinsoniano.

# Eficacia antiparkinsoniana de trasplantes de paraganglio carotídeo y aórtico abdominal

El Premio 1999 al mejor artículo publicado sobre trasplante convocado por la Fundació Catalana de Trasplantament y la Reial Acadèmia de Medicina de Catalunya fue otorgado al Prof. Emilio Fernández Espejo por su trabajo *Cellular and Functional Recovery of Parkinsonian Rats after Intrastriatal Transplantation of Carotid Body Cell Aggregates* publicado en *Neuron*, Vol 20, 197-206, febrero 1999, que se resume a continuación.

Desgraciadamente, la levodopa no frena el curso de la enfermedad y su eficacia disminuye con el tiempo, produciéndose modificaciones en su respuesta terapéutica, tales como episodios *off* (inactividad del fármaco), deterioros de fin de dosis (*wearing off*) o discinesias. La ineficacia del fármaco se debe principalmente a la degeneración y muerte progresiva de las fibras intraestriatales que transforman la levodopa. Por esta razón, se ensayan otras terapéuticas alternativas a la farmacológica, entre las que destacan las de naturaleza quirúrgica lesional o estimuladora o basada en injertos celulares.



Dr. Emilio Fernández Espejo

## TERAPIAS ANTIPARKINSONIANAS MEDIANTE TRASPLANTES DE CÉLULAS SECRETORAS DE DOPAMINA

La razón del uso de trasplantes es sencilla. La levodopa mejora espectacularmente la enfermedad porque se convierte en dopamina, pero su eficacia disminuye por la progresiva pérdida de las células que transforman la levodopa en dopamina. Por tanto, ¿por qué no injertar células secretoras de dopamina que sobrevivan en el estriado a largo plazo, con el fin de restaurar el "tono" dopaminérgico de un modo permanente? (Yurek y Sladek, 1990).

Desde los años ochenta se han realizado ensayos a nivel preclínico, y en algunos casos clínico, con distintos tipos celulares, como células de médula adrenal, células mesencefálicas fetales humanas y de cerdo, fibroblastos modificados genéticamente para que produzcan dopamina, etc. Estos trasplantes muestran una serie de inconvenientes importantes, como son alta mortalidad celular, necesidad de inmunosupresión, baja secreción de dopamina *in vivo*, etc. (Perlow et al., 1979; Freed et al., 1981; Björklund et al., 1982; Backlund et al., 1985; Brundin et al., 1987; Lindvall et al., 1987; Madrazo et al., 1987; Peterson et al., 1988; Kordower et al., 1995).

## TRASPLANTE CON CÉLULAS GLÓMICAS O DE PARAGANGLIO CAROTÍDEO

Junto con los equipos de los Dres. José López Barneo y José A. Armengol de la Facultad de Medicina de Sevilla, decidimos utilizar como trasplante células glómicas del cuerpo carotídeo con el fin de intentar superar los inconvenientes usualmente encontrados con otros tipos celulares. Así, las células

glómicas son sensibles y resistentes a la hipoxia, estímulo que induce la liberación de dopamina. Una de las principales causas de mortalidad celular en los trasplantes es la hipoxia en el tejido cerebral, debido al gran consumo de oxígeno por las neuronas. Por tanto, creíamos que en el caso de las células glómicas este hecho sería una ventaja, más que un inconveniente. Además, podrían utilizarse células del propio receptor, pues la extirpación de un cuerpo carotídeo no produce alteraciones fisiológicas (el otro paraganglio compensa el déficit), evitándose la mortalidad celular por rechazo.

Las células se encuentran asociadas en glomérulos rodeados de células de sostén tipo II, de probable origen glial, y de tejido conectivo muy vascularizado, y presentan una maquinaria celular bastante sutil tendente a la liberación de dopamina. Dicha maquinaria se afecta seriamente tras una agresión enzimática. Por tanto, se decidió emplear el tejido en forma de agregados celulares, o sea, sometándolo a un tratamiento enzimático suave. Esto tiene diversas ventajas: a) mantiene el fenotipo normal de las células glómicas, asociadas en glomérulos; b) mantiene la relación intercelular con las células tipo II, y c) disminuye el tejido conectivo, facilitando la implantación celular. A este respecto, a finales de los ochenta se ensayó en la Universidad de Rochester, Estados Unidos, la eficacia de trasplantes de células glómicas dispersas. Los resultados fueron bastante desalentadores, probablemente debido a la fuerte agresión enzimática necesaria para la dispersión celular.

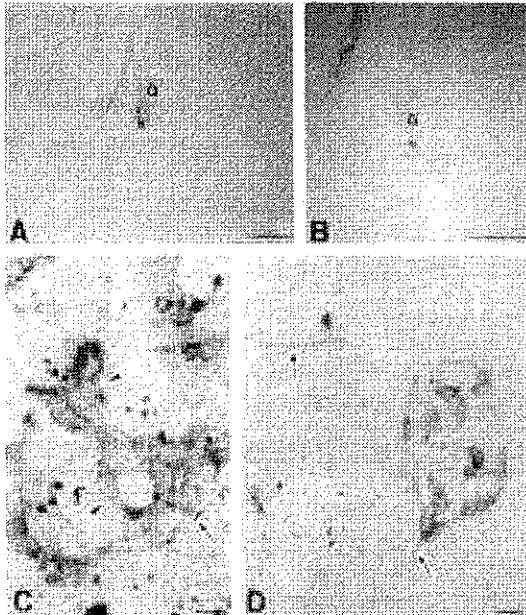
Para la experimentación se empleó el modelo de Parkinson en ratas, basado en la lesión unilateral de

la sustancia negra mediante un tóxico, la 6-hidroxi-dopamina, que destruye selectivamente las neuronas dopaminérgicas. Las ratas con una lesión superior al 85% de la sustancia negra presentan una sintomatología que se asemeja a la humana: acinesia, lateralización de movimientos, déficit sensoriomotores, etc. Estos defectos pueden evaluarse con una batería de tests adecuada. Además, la lateralización puede exacerbarse mediante la inyección de amfetamina (5 mg/kg), lo que induce una intensa rotación ipsilateral (hacia el lado de la lesión), cuya frecuencia, si es mayor de 7 giros por minuto, es indicativa de una lesión de más del 85% de las neuronas dopaminérgicas de la sustancia negra.

Los agregados celulares de cuerpo carotídeo se implantaron en el estriado denervado de ratas parkinsonianas, a los diez días tras la lesión de la sustancia negra. A los quince, treinta y noventa días tras el trasplante se evaluó la funcionalidad del injerto desde un punto de vista conductual y neuroquímico, mediante una batería de tests y el registro amperométrico de los niveles de dopamina en el estriado, respectivamente. Además, se realizaron estudios morfológicos mediante tinciones de tirosina-hidroxilasa, enzima limitante en la síntesis de dopamina y que indica la presencia o ausencia de células productoras de dopamina.

Los resultados funcionales fueron muy buenos: a) la rotación espontánea e inducida disminuyó más de un 90% desde el primer mes, y b) los reflejos sensoriomotores se recuperaron al cabo de tres meses. Hay que añadir que otro síntoma, la acinesia, no mejoró. Este síntoma se cree debido a la denervación del estriado ventral y su mejoría requiere no sólo el aporte de dopamina sino también la reestructuración del tejido. Los registros amperométricos, que detectaron unos niveles de dopamina del 10% en el estriado denervado respecto al normal, revelaron una recuperación del 50-60% de los niveles de dopamina en el estriado denervado con trasplante a los tres meses de la implantación.

Finalmente, los resultados morfológicos mostraron la presencia de trasplantes con células glómicas positivas a la tirosina-hidroxilasa, asociadas en glomérulos de morfología normal y que, a los tres meses, presentaban largas fibras que salían del trasplante hacia el estriado, dando a las células un aspecto neuronal. Las fibras presentaban varicosidades a lo largo de su recorrido, que sugieren el establecimiento de sinapsis dopaminérgicas *en passant*, del mismo modo que hacen los axones procedentes de la sustancia negra en el estriado normal. En definitiva, las células glómicas prendieron muy bien en el tejido huésped, segregaban dopamina (probablemente la hipoxia tisular facilita este fenómeno, ausente en otros tipos de células usadas para trasplantes) y adoptaban sorprendentemente una morfología neuronal.



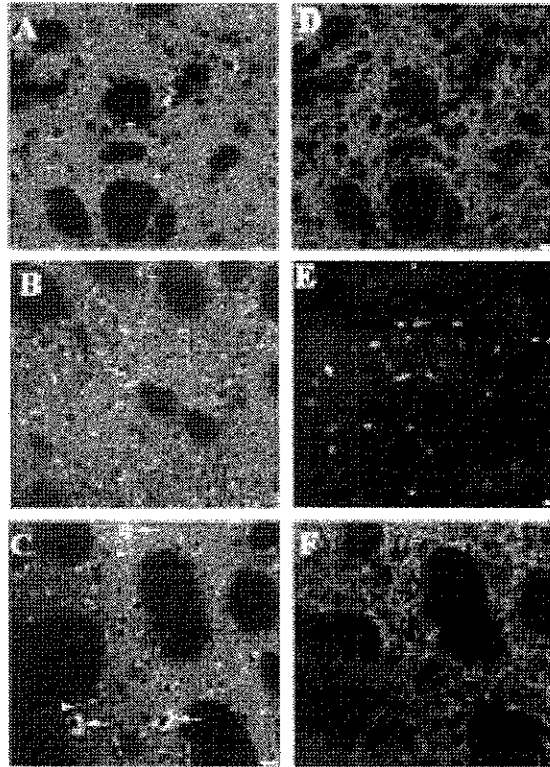
Imágenes de inmunohistoquímica de tirosina-hidroxilasa (TH), la enzima sintetizadora de dopamina. Las imágenes A y B muestran trasplantes de células glómicas (G) en estriado denervado, con clara positividad TH del trasplante y de la zona adyacente, indicativa de reinervación. Las imágenes C y D muestran glomérulos de células glómicas (puntas de flecha) a los tres meses del trasplante, con apariencia normal, clara positividad a TH, como asimismo procesos neuríticos que emergen de las células (flechas).

En conclusión, nuestro estudio mostró que el empleo de trasplantes de células glómicas de cuerpo carotídeo, en agregados celulares tras un tratamiento enzimático suave, recupera la funcionalidad de ratas parkinsonianas y podría ser una metodología alternativa para el tratamiento de la enfermedad de Parkinson (Espejo et al., 1998). Dichos trasplantes ya han sido ensayados con éxito en modelos de Parkinson en primates por el equipo de la Dra. Rosario Luquín de la Universidad de Navarra, donde también se ha detectado una mejoría del temblor y de las habilidades motoras de los monos (Luquín et al., 1999). Actualmente se realizan ensayos clínicos en pacientes humanos en el Hospital Virgen de las Nieves de Granada, bajo la dirección del Dr. Ventura Arjona.

### TRASPLANTE CON CÉLULAS PARAGANGLIONARES AÓRTICAS

El uso de trasplantes celulares ha revelado que la mejoría antiparkinsoniana puede obtenerse por aporte de dopamina, pero un hecho constante en la mayoría de los trasplantes es la presencia de reinervación. Esta reinervación puede ser intrínseca (por fibras del trasplante, tal como ocurre con las células glómicas) o extrínseca (se estimula la recuperación de las fibras en el estriado huésped). Evidentemente, la inducción de reinervación extrínseca sería un paso crucial en la terapia antiparkinsoniana, porque se restauraría el tejido dañado y, probablemente, se obtendría una gran recuperación funcional. Numerosos autores han postulado que la reinervación tras trasplantes celulares se debe a la secreción de factores tróficos por parte de las células trasplantadas. Una interrogante lógica es si existen células que segreguen factores tróficos neurorestaurativos. Recientemente se ha detectado que las células cromafines extraadrenales segregan tanto *in vitro* como *in vivo* factores tróficos como  $\beta$ FGE, TGF- $\beta$  y GDNF. Se sabe además que la inyección intracerebral de estos factores tróficos induce la recuperación de fibras dopaminérgicas estriatales en modelos animales de Parkinson (Unsicker y Kriegstein, 1996; Kriegstein et al., 1998).

Actualmente, mi equipo ensaya el uso de trasplantes de células cromafines extraadrenales en modelos animales de Parkinson. El tejido se trasplanta en forma de agregados celulares y se estudia la recuperación funcional mediante la metodología explicada en el apartado anterior. Los resultados obtenidos con paraganglio aórtico abdominal, un tejido extraadrenal rico en células cromafines secretoras de noradrenalina, indican que estos trasplantes inducen una mejoría del 70% de la lateralización y de los reflejos sensoriomotores a partir de las tres semanas de trasplante. Sorprendentemente, la acinesia desaparece al mes y medio tras el trasplante. Estos hechos funcionales se asocian a una reinervación parcial del estriado dorsal y a una



Imágenes confocales de inmunofluorescencia de tirosina-hidroxilasa (TH) y dopamina-beta-hidroxilasa (DBH), la enzima sintetizadora de noradrenalina. Las imágenes A y D muestran un estriado normal con presencia de TH y, por tanto, de fibras dopaminérgicas, así como presencia de DBH en A. Las imágenes B y E muestran el estriado en la enfermedad de Parkinson, donde la TH prácticamente ha desaparecido. Las imágenes C y F muestran un estriado trasplantado con paraganglio donde aparecen células cromafines (en C, flechas) con procesos neuríticos (en C, puntas de flechas) y una cierta recuperación de TH, indicativa de reinervación.

aparente total reinervación del estriado ventral, lo que sugiere fuertemente que la reinervación del estriado ventral induce la abolición de la acinesia. Por tanto, parece ser que los trasplantes de paraganglio extraadrenal aórtico abdominal poseen un robusto efecto trófico sobre el tejido denervado, dando lugar a una importante mejoría de la sintomatología parkinsoniana. Este efecto podría estar mediado por factores neurotróficos probablemente segregados por células cromafines *in vivo*, lo cual abriría nuevas vías terapéuticas respecto al uso de trasplantes celulares con efecto neurorestaurativo.

### RECONOCIMIENTOS

Las investigaciones son financiadas por el Ministerio de Educación y Cultura y la Fundación La Caixa. El autor agradece la colaboración de los Dres. Javier de Felipe y M. Carmen González Albo en los estudios morfológicos de trasplante extraadrenal (Instituto Cajal, Madrid), y la de Joao-Paulo Moraes y Antonio León (Universidad de Sevilla).

Emilio Fernández Espejo

Departamento de Fisiología Médica

Facultad de Medicina de la Universidad de Sevilla