

Implantes de células de cuerpo carotídeo como alternativa de tratamiento para la enfermedad de Parkinson

M^a.R. Luquin

Departamento de Neurología y Neurocirugía, Clínica Universitaria, Facultad de Medicina, Universidad de Navarra

RESUMEN: La existencia de fluctuaciones motoras, discinesias y complicaciones psiquiátricas en un porcentaje elevado de pacientes parkinsonianos tratados crónicamente con L-dopa ha llevado al desarrollo de nuevas estrategias de tratamiento para esta enfermedad. La estimulación eléctrica del núcleo subtalámico o del globo pálido medial mejoran de forma sustancial los síntomas parkinsonianos y las discinesias inducidas por levodopa, pero no enlentecen la progresión natural de la enfermedad. Los implantes de células secretoras de dopamina que remplacen las células dopaminérgicas que degeneran en esta enfermedad, constituirían el tratamiento ideal para esta entidad. El presente trabajo resume los resultados obtenidos en modelos animales de enfermedad de Parkinson y en humanos con los diferentes tipos celulares utilizados así como sus limitaciones.

SUMMARY: The appearance of motor fluctuations and dyskinesias in a large number of parkinsonian patients treated with levodopa, has promoted the development of new therapeutical approaches. Deep brain stimulation of subthalamic nucleus and globus pallidus medialis results in a marked improvement of parkinsonism and levodopa-induced dyskinesias. However, this approach does not delay the progression of the disease. Transplantation of dopamine-releasing cells might represent an advantage as these cells could replace the loss of dopaminergic neurons occurring in Parkinson's disease. This article reviews the main results obtained in experimental models of Parkinson's disease and in humans using different types of dopaminergic cells. The advantages and limitations of this treatment are also discussed.

Palabras clave

Enfermedad de Parkinson; Transplantes celulares; Células del cuerpo carotídeo.

Key words

Parkinson's disease; Cell transplantation; Carotid body cells.

Correspondencia

Dra. M^a Rosario Luquin
Dept. Neurología y Neurocirugía
Clínica Universitaria
Avda. Pío XII s/n. 31080 Pamplona, Navarra
Tfno.: 948 255 400
Fax: 948 296 500
E-mail: rluquin@unav.es

Introducción

La enfermedad de Parkinson (EP) es una enfermedad degenerativa de causa desconocida. Su sustrato anatómico radica en la degeneración de las neuronas dopaminérgicas de la sustancia negra pars compacta (SNc) (1) que proyectan al estriado, con la consiguiente reducción del contenido de dopamina estriatal. Aunque la L-dopa continua siendo el fármaco anti-parkinsoniano más potente, la presencia de complicaciones motoras y psiquiátricas en un porcentaje elevado de pacientes al cabo de varios años de tratamiento (2) ha conducido al desarrollo de nuevas alternativas de tratamiento para estos pacientes. Entre ellas, la estimulación cerebral profunda del núcleo subtalámico (NST) y del globo pálido medial (GPM) y los implantes estriatales de células secretoras de dopamina se perfilan como dos buenas opciones terapéuticas (3,4). La estimulación cerebral profunda del NST ó del GPM mejoran de forma sustancial la

ARTÍCULOS DE REVISIÓN

rigidez, la bradiciencia, el temblor y las discinesias inducidas por l-dopa. Sin embargo, estas opciones terapéuticas permiten un control adecuado de los síntomas pero no modifican la evolución natural de la enfermedad. Por otro lado, su alto coste hace que pueda ser aplicado a un número reducido de pacientes. Por ello, en la última década los implantes de células secretoras de dopamina en las estructuras cerebrales que originalmente reciben las proyecciones dopaminérgicas, han sido exploradas como una nueva alternativa de tratamiento para los pacientes parkinsonianos.

En modelos animales de EP se han utilizado como posibles "células donantes" una gran variedad de células secretoras de dopamina (células de ganglio cervical, células PC12, células de Sertoli, células embrionarias de cerdo y células del glomus carotídeo), las cuales son capaces de sobrevivir en el estriado del huésped, liberan dopamina en cantidades óptimas y revierten los síntomas motores derivados del déficit dopaminérgico. Sin embargo, en humanos únicamente las células cromafines de la médula adrenal, las células mesencefálicas fetales y más recientemente las células mesencefálicas de cerdo, han sido utilizadas como alternativa de tratamiento en pacientes con EP (5).

En humanos, los implantes estriatales de células adrenales inducen una mejoría moderada y transitoria de los síntomas parkinsonianos (6). En estos pacientes los estudios de PET con [¹⁸F]-dopa no muestran cambios significativos en la captación de ¹⁸F-dopa al cabo de 6 meses de la intervención (7) lo que sugiere que las células adrenales implantadas no sobreviven. Por otro lado, los estudios histológicos post-mortem disponibles de pacientes con EP a los que se les realizó un implante adrenal, muestran una cavidad necrótica en el sitio del implante con astrocitosis reactiva y un número reducido de células cromafines que no muestran una inmunorreactividad positiva para tirosina hidroxilasa (TH) (8-14). Solamente existe un caso en la literatura en el que pudieron identificarse un número reducido de células TH (+) en el lugar del implante. Sin embargo, la ausencia de una inmunorreactividad positiva para cromogragin A, cuestiona el origen adrenal de estas células.

Los estudios *in vitro* han demostrado repetidamente que la supervivencia de las células adrenales se incrementa cuando se añade al medio de cultivo fac-

tores de crecimiento nervioso (NGF) (15,16). Teniendo en cuenta que la concentración estriatal de NGF es muy baja, este hecho podría ser uno de los factores limitantes de la supervivencia a largo plazo de las células adrenales implantadas. En un intento de aumentar los niveles estriatales de NGF y con ello la supervivencia de las células adrenales, se han realizado co-implantes de nervio periférico (las células de Schwan son una fuente importante de NGF y otros factores tróficos) y médula adrenal. En los pacientes en los que se realizó este tipo de implante presentaron una reducción importante y mantenida (más de 2 años) del número diario de horas "off" (17). Además, en estos casos existen numerosas células cromafines TH (+) en el lugar del implante (18). Sin embargo, aunque la respuesta clínica de los pacientes y la supervivencia de las células cromafines de la médula suprarrenal es superior en los co-implantes de médula suprarrenal y nervio periférico que en los implantes únicos de médula adrenal, la alta morbilidad que conllevan junto con la posibilidad de utilizar otras células donantes ha conducido a que en la actualidad este tipo de trasplante haya sido prácticamente abandonado.

En animales de experimentación los implantes de células de mesencéfalo fetal son capaces de inervar más de 2/3 del estriado denervado, las células implantadas establecen conexiones sinápticas con las células estriatales, son capaces de sintetizar y liberar dopamina, muestran un patrón de descarga neuronal normal y revierten los síntomas motores derivados del déficit dopaminérgico (19-23). Se estima que en humanos se han realizado aproximadamente 150 implantes mesencefálicos fetales agrupados en series reducidas de pacientes (n= 2-12). Sin embargo, el número de pacientes tratados con este método es seguramente muy superior ya que todos los pacientes que se intervienen no se publican ni tampoco aquellos en los que la evolución no haya sido favorable. En cualquier caso, los resultados publicados en la literatura, no permiten establecer conclusiones definitivas debido a la gran variabilidad que existe en la metodología utilizada para la preparación del tejido. Así, el número de embriones utilizados, su edad gestacional, el tamaño y número de los fragmentos implantados y el lugar donde se colocan los implantes (caudado y/o putamen), es diferente de unas series a otras. Aún así, en aproximadamente el 80% de los pacientes en los que se han realizado implantes

ARTÍCULOS DE REVISIÓN

mesencefálicos fetales se comprueba una mejoría clínica que aparece entre las 6 y 12 semanas posteriores a la cirugía y se mantiene a lo largo de los 4-10 años siguientes. Esta mejoría se caracteriza por un incremento del número diario de horas "on", una moderada reducción de las escalas motoras en "off", aumento del número de horas "on" sin discinesias y disminución de la dosis diaria de L-dopa. Los síntomas axiales (marcha y postura) mejoran de forma más inconstante. En todos ellos el beneficio motor se acompaña de un incremento significativo de la captación estriatal de 18-F-dopa en el PET lo que sugiere un adecuado funcionamiento de las células implantadas (24-27). Los hallazgos post-mortem en los pacientes que fallecieron al cabo de unos meses del trasplante fetal han confirmado la existencia un gran número de células TH (+) en el sitio del implante las cuales invaden el 50% del estriado y establecen conexiones sinápticas con las células estriatales del huésped (28). Aunque siempre existe la posibilidad de que la recuperación motora sea debida en parte a un efecto inespecífico derivado de la propia intervención quirúrgica, los resultados del PET con 18-F-dopa y los hallazgos histológicos claramente indican que el beneficio motor observado en estos pacientes está relacionado con la supervivencia y el adecuado funcionamiento de las células dopaminérgicas implantadas.

El número de células TH (+) que se han identificado en el estriado de los pacientes con trasplantes de mesencéfalo fetal es de aproximadamente 210.000. Si tenemos en cuenta que una SN humana contiene alrededor de 500.000 células y que en un implante fetal se utilizan entre 3-4 donantes, el número tan reducido de células TH (+) que se identifican en el estriado del huésped sugiere que solamente un 5% de las células implantadas sobreviven (29). A pesar de esta baja supervivencia el número de células TH (+) representan aproximadamente el 50% de las células que contiene la SN, número hipotéticamente suficiente para que los síntomas de la enfermedad desaparezcan por completo, ya que es necesario que la degeneración neuronal afecte al menos al 60-70% de las células de la SN para que los síntomas de la EP aparezcan. Sin embargo, aunque la dosis de L-dopa puede reducirse en la mayoría de los sujetos en los que se realiza un trasplante de células fetales, todos ellos precisan tratamiento farmacológico sustitutivo. El implante de células mesencefálicas fetales forma en el estriado del huésped un sistema nigroestriado

circunscrito al lugar del estriado donde se realiza el implante. Además únicamente las zonas del estriado que rodean al sitio donde se realiza el implante reciben innervación dopaminérgica, existiendo por tanto áreas extensas del estriado en las que la innervación dopaminérgica no se restablece. Por tanto, la falta de innervación dopaminérgica en las zonas del estriado distantes al lugar del implante junto al hecho de que el implante tampoco restablecerá las proyecciones dopaminérgicas que existen desde la sustancia negra a otras estructuras de los ganglios basales como el núcleo subtalámico, el globo pálido interno y externo podría explicar por qué los pacientes experimentan una mejoría moderada a pesar de que estos trasplantes aportan un número de células dopaminérgicas hipotéticamente suficiente para revertir los síntomas de la enfermedad.

Independientemente de que los implantes fetales induzcan una mejoría significativa del parkinsonismo, esta técnica no puede ser considerada como una alternativa de tratamiento en la EP por los problemas éticos y legales que conlleva la utilización de tejido fetal, por lo que se hace necesario la búsqueda de otro tipo de células, preferiblemente del propio individuo, que sinteticen dopamina y puedan sobrevivir en el estriado del huésped una vez implantadas.

Una fuente potencial de "células donantes" dopaminérgicas son las células del cuerpo carotídeo. El cuerpo carotídeo es una estructura que deriva de la cresta neural y contiene dos tipos de células diferentes: las células glómicas o células tipo I, que sintetizan y liberan dopamina especialmente en condiciones en las que la concentración de oxígeno del medio es muy baja (30,31) y las células tipo II con una morfología similar a las células de la glía (32). Su función es la de monitorizar los cambios de O_2 , CO_2 y H^+ inducidos por la hipoxia, ejercicio, etc. (33). Los primeros implantes de células disociadas de cuerpo carotídeo realizados en rata con lesión nigroestriada unilateral no mostraron cambios significativos en la conducta motora del animal (34). Posteriormente Espejo y col (35) demostraron que el implante estriatal de agregados celulares de cuerpo carotídeo, revertía los déficits motores inducidos por la lesión unilateral del haz nigroestriado en rata y se acompañaba de la presencia de células TH (+) en el lugar del implante (400-600 células), de una gran densidad de fibras TH (+) que innervaban el estriado del huésped y de un incremento de los niveles de dopamina estriatal de un 60%.

ARTÍCULOS DE REVISIÓN

Teniendo en cuenta el escaso número de células TH (+) que se identifican en el estriado implantado en relación al incremento tan marcado de los niveles de dopamina que inducen, se hipotetizó que estas células eran capaces de sintetizar mayor cantidad de dopamina que las células de la SN.

En primates no humanos con parkinsonismo inducido por MPTP, hemos podido comprobar que el autoimplante de agregados celulares de cuerpo carotídeo en el putamen izquierdo reduce de forma significativa el temblor y la bradicinesia del lado contralateral y mejora de forma sustancial la postura y el equilibrio (36). La mejoría del parkinsonismo aparece a los 15 días del implante y persiste durante 5 meses. En el estudio histológico de estos animales se observa un número reducido de células TH (+) (aproximadamente 100 células por tracto de inyección) y una gran densidad de fibras TH (+) en el estriado implantado no solamente en la zona próxima al implante, sino también en estructuras como la cabeza del núcleo caudado situada varios milímetros rostral al lugar del implante. Este patrón de reinervación difiere substancialmente del descrito en los estudios histológicos de los pacientes con implantes fetales en los cuales el aumento de la densidad de fibras TH (+) del estriado está circunscrito a la zona próxima al implante (500 mm) y corresponde a prolongaciones de las células dopaminérgicas fetales implantadas. Por el contrario, en los implantes de agregados de células de cuerpo carotídeo, la enorme densidad de fibras TH (+) que se observa en el estriado y en lugares tan alejados del sitio del implante sugiere que estas fibras sean la consecuencia de la acción de factores tróficos sobre las

terminales dopaminérgicas endógenas. Entre los factores tróficos el GDNF parece el candidato ideal ya que además de las células glómicas que sintetizan dopamina, el cuerpo carotídeo tiene células tipo II de morfología similar a las células de la glia y estudios de hibridación in situ en rata han mostrado que en el cuerpo carotídeo la expresión de GDNF es muy elevada (37).

La supervivencia y funcionamiento de las células del cuerpo carotídeo ofrece una serie de ventajas para su utilización como células donantes en la EP. Por una parte, las células procederían del mismo individuo lo que evitaría el rechazo y la medicación inmunosupresora y por otro lado, la resección quirúrgica del mismo no conlleva efectos secundarios importantes en el hombre (38). No obstante para que los implantes de cuerpo carotídeo puedan ser considerados como una alternativa de tratamiento en la EP, habría que comprobar si la mejoría de los síntomas motores y el incremento de la innervación dopaminérgica estriatal se mantienen a largo plazo. Por último es importante conocer si las células glómicas del cuerpo carotídeo permanecen intactas en los sujetos con EP ó degeneran como ocurre con otras células catecolaminérgicas extracerebrales. En cualquier caso si la mejoría clínica depende de la liberación de factores tróficos, la degeneración parcial de las células glómicas dopaminérgicas no sería un factor limitante en la viabilidad del autoimplante en humanos. En efecto, en nuestros animales hemos comprobado que el MPTP destruye un número importante de células glómicas TH (+) y aún así el implante de agregados celulares de cuerpo carotídeo revierte el parkinsonismo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Luquin MR, Saldise L. Sistema dopaminérgico y muerte neuronal. *Revista Neurología*. 1997; Vol 25 Supl 2: S129-140.

2. Luquin MR, Obeso JA, Martínez Lage JM. Complicaciones motoras en pacientes con enfermedad de Parkinson tratados con L-dopa. *Neurología* 1989; 4: 4-11.

3. Lang AE, Lozano AM, Montgomery E, Duff J, Tasker R, Hutchinson

W. Posteroventral medial pallidotomy in advanced Parkinson's disease. *N Engl J Med* 1997; 337:1036-42.

4. Bejjani B, Damier P, Arnulf I, Bonnet AM, Vidailhet M, Dormont D, Pidoux B, Cornu P, Marsault C, Agid Y. Pallidal stimulation for Parkinson's disease. Two targets? *Neurology* 1997; 49:1564-1569.

5. Kordower JH, Schueller SB, Bredesen D, Freeman TB, Sage J.

Neural grafting for Parkinson's disease: An evaluation of dopaminergic donor tissues. En: Marwah J, Teitelbaum H, Prasad H (eds). *Neural Transplantation, CNS Neuronal Injury, and Regeneration: Recent Advances*. CRC Press, Boca Raton FL, 1994:17-27.

6. Goetz CG, Olanow CW, Koller WC, Penn RD, Cahill D, Morantz R, et al. L. Multicentric study of autologous adrenal medullary transplantation to the corpus striatum in patients with

ARTÍCULOS DE REVISIÓN

advanced Parkinson's disease. *N Engl J Med* 1989;320:337-342.

7. Sawle GV, Myers R. The role of emission tomography in the assessment of human neurotransplantation. *TINS* 1993;16:172-176.

8. Hurtig H, Joyce J, Sladek JR, Trojanowski JQ. Postmortem analysis of adrenal-medulla-to-caudate autograft in a patient with Parkinson's disease. *Ann Neurol* 1989;25:607-614.

9. Jankovic J, Grossman R, Goodman C, Pirozzolo F, Schneider L, Zhu Z et al. Clinical biochemical and neuropathological findings following transplantation of adrenal medulla to the caudate nucleus for the treatment of Parkinson's disease. *Neurology* 1989;39:1227-1234.

10. Peterson DI, Price ML, Small CS. Autopsy findings in a patient who had adrenal-to-brain transplant for Parkinson's disease. *Neurology* 1989;39:235-238.

11. Hirsch EC, Duyckaerts C, Javoy-Agid F, Hauw JJ, Agid Y. Does adrenal grafts enhance recovery of dopaminergic neurons in Parkinson's disease? *Ann Neurol* 1990;27:676-682.

12. Waters C, Itabashi HH, Apuzzo MJ, Weiner LP. Adrenal to caudate transplantation. A post-mortem study. *Mov Disord* 1990;5:248-250.

13. Forno LS, Langston JW. Unfavorable outcome of adrenal medullary transplant for Parkinson's disease. *Acta Neuropathol* 1991;81:691-694.

14. Kordower JH, Cochran E, Penn R, Goetz C. Putative chromaffin cell survival and enhanced host-derived TH-fiber innervation following a functional adrenal medulla autograft for Parkinson's disease. *Ann Neurol* 1991;29:565-572.

15. Unsicker K, Rieffert B, Ziegler W. Effects of cell culture conditions, nerve growth factor, dexamethasone, and cyclic AMP on adrenal chromaffin cells in vitro. *Adv Biochem Pharmacol* 1980;25:51-9.

16. Strömberg I, Herrera-Marschitz M, Ungerstedt U, Ebendal T, Olson L. Chronic implants of chromaffin tissue into the dopamine-denervated striatum: Effects of NGF on graft survival, fiber growth and rotation behavior. *Exp Brain Res* 1985;60:335-349.

17. Watts RL, Subramanian T, Freeman A, Goetz GC, Penn RD, Stebbins GT, et al. Effect of stereotaxic intrastriatal cogafts of autologous adrenal medulla and peripheral nerve in Parkinson's disease: two year follow-up study. *Exp Neurol* 1997;147:510-517.

18. Date I, Imaoka T, Miyohi Y, Ono T, Asari S, Ohmoto T. Chromaffin cell survival and host dopaminergic fiber recovery in a patient with Parkinson's disease treated by cogafts of adrenal medulla and pretranssected peripheral nerve. *J Neurosurg* 1996;84:685-689.

19. Freund TF, Bolam JP, Björklund A, Stenevi U, Dunnett SB, Powell JF, Smith-AD. Efferent synaptic connections of grafted dopaminergic neurons reinnervating the host neostriatum: a tyrosine hydroxylase immunocytochemical study. *J Neurosci* 1985;5:603-616.

20. Björklund A, Stenevi U. Reconstruction of the nigrostriatal dopamine pathway by intracerebral nigral transplants. *Brain Res* 1979;177:555-560.

21. Perlow MJ, Freed WJ, Hoffer BJ, Sciger A, Olson L, Wyatt RJ. Brain grafts reduce motor abnormalities produced by destruction of nigrostriatal dopamine system. *Science* 1979;204:643-647.

22. Strecker RE, Sharp T, Brudin P, Zetterström T, Ungerstedt U, Björklund A. Autoregulation of dopamine release and metabolism by intrastriatal nigral grafts as revealed by intracerebral dialysis. *Neuroscience* 1987;22:169-178.

23. Schmidt RH, Ingva M, Lindvall O, Stenevi U, Björklund A. Functional activity of substantia nigra grafts reinnervating the striatum: neurotransmitter metabolism and [14C]2-deoxy-D-glucose autoradiography. *J Neurochem* 1982;38:737-48.

24. Lindvall O, Brudin P, Windner H, Rehnström S, Gustavii B, Frakowiak R, Leenders KL, Sawle G, Rothwell JC, Marsden CD, Björklund A. Grafts of fetal dopamine neurons survive and improve motor function in Parkinson's disease. *Science* 1990;247:574-577.

25. Freed CR, Breeze RE, Rosenberg NL, Schneck SA, Kriek E, Qi JX, Lone T, Zhang YB, Snyder JA, Wells TH et al. Survival of implanted fetal dopamine cells and neurologic improvement 12 to 46 months after transplantation for Parkinson's disease. *N Engl J Med* 1992;327:1549-1555.

26. Freeman TB, Olanow CW, Hauser RA, Nauert GM, Smith DA, Borlongan CV, Sanberg PR, Holt DA, Kordower JH, Vingerhoets FJ, et al. Bilateral fetal nigral transplantation into the post-commissural putamen in Parkinson's disease. *Ann Neurol* 1995;38:379-388.

27. Hauser RA, Freeman TB, Sonw BJ, Nauert M, Gauger J, Kordower JH, et al. Long-term evaluation of bilateral nigral transplantation in Parkinson's disease. *Arch Neurol* 1999;56:179-187.

28. Kordower JH, Freeman TB, Snow BJ, Vingerhoets FJG, Mufson EJ, Sanberg PR, Hauser RA, Smith DA, Nauert GM, Perl DP, Olanow CW. Neuropathological evidence of graft

ARTÍCULOS DE REVISIÓN

survival and striatal reinnervation after the transplantation of fetal mesencephalic tissue in a patient with Parkinson's disease. *N Engl J Med* 1995;332:1118-1124.

29. Kordower JH, Rosenstein JM, Collier TJ, Burke MA, Chen EY, Li JM, et al. Functional fetal nigral grafts in a patient with Parkinson's disease: chemoanatomical, ultrastructural and metabolic studies. *J Comp Neurol* 1996;370:203-230.

30. Wang ZZ, Dinger B, Fidone SJ, Stensaas LJ. Changes in tyrosine hydroxylase and substance P immunoreactivity in the cat carotid body following chronic hypoxia and denervation. *Neuroscience* 1998;83: 1273-1281.

31. Fidone SJ, Gonzalez C. Initiation and control of chemoreceptor activity in the carotid body. *Handbook of Physiology: The respiratory System II*,

A Fishman (eds). (Washington, DC: American Physiological Society; 1986: pp:247-312.

32. Czyzyk-Krzeska MF, Bayliss DA, Lawson EE, Millhom DE. Regulation of tyrosine hydroxylase gene expression in the rat carotid body by hypoxia. *J Neurochem* 1992;58: 1538-1546.

33. Berger AJ, Hornbein TJ. *Textbook of Physiology*. Patton HD, Fuchs AF, Hille B, Scher AM, Steiner R (eds). Philadelphia. WB Saunders Co 1989;1026-1045.

34. Bing GY, Notter MF, Hansen JT, Gash-DM. Comparison of adrenal medullary, carotid body and PC12 cell grafts in 6-OHDA lesioned rats. *Brain Res Bull* 1988; 20:399-406.

35. Espejo EF, Montoro RJ, José A Armengol, José López-Barneo. *Cellular*

and functional recovery of parkinsonian rats after intrastriatal transplantation of carotid body cell aggregates. *Neuron* 1998;20:197-206.

36. Luquin MR, Montoro R, Guillén J, Saldice L, Insausti R, Del Rio J, López-Barneo. Recovery of chronic parkinsonian monkeys by autotransplants of carotid body cell aggregates into the putamen. *Neuron* 1999;22:743-743.

37. Nosrat CA, Tomac A, Lindquist E, Lindskog S, Humpel C, Strömberg Y, Ebendal T, Hoffers J, Olson L. Cellular expression of GDNF mRNA suggests multiple functions inside and outside the nervous system. *Cell Tissue* 1996;286:191-207

38. Honda Y. Respiratory and circulatory activities in carotid body resected humans. *J Appl Physiol* 1992; 73:1-8.