

Terapia celular y aplicación de células madre en la enfermedad de Parkinson (Revisión)

M. en C. Dr. Gerardo Martín González-López,* Dr. Carlos Armando Sosa-Luna,*[†]
Dr. José Luis Juárez-Maldonado,[‡] M. en M.F. Dra. Nayeli Isabel Trejo-Bahena,[§]
BSc Marisol Núñez-Sánchez,^{||} Dr. en C. Dolores Javier Sánchez-González^{||,¶}

* Subsección de Evaluación, Sección Pedagógica, Escuela Médico Militar, Universidad del Ejército y Fuerza Aérea, México.

[†] Subsección de Farmacología, Escuela Médico Militar, Universidad del Ejército y Fuerza Aérea, México.

[‡] Subdirección de la Escuela Médico Militar, Universidad del Ejército y Fuerza Aérea, México.

[§] Sección de Medicina Legal, Hospital Central Militar, México.

^{||} Escuela Superior de Medicina, Instituto Politécnico Nacional, México.

[¶] Jefe de la Subsección de Biología Celular y Tisular Escuela Médico Militar, Universidad del Ejército y Fuerza Aérea, México. Miembro del Sistema Nacional de Investigadores (SNI-CONACyT).

RESUMEN

La enfermedad de Parkinson (EP) es una degeneración neuronal crónica del núcleo estriado con déficit en la síntesis de dopamina ($C_6H_3(OH)_2-CH_2-CH_2-NH_2$) y trastorno del movimiento de origen multifactorial. El tratamiento farmacológico más eficaz es la administración oral de levodopa (L-3,4-dihidroxifenilalanina), un precursor que se convierte en dopamina; sin embargo, a largo plazo aparecen complicaciones, como discinesias resistencia al fármaco. La terapia celular consiste en trasplantar células dopaminérgicas de diversas estirpes celulares como de la médula suprarrenal, tejido nervioso, cromafín, células mesencefálicas fetales, epitelio pigmentado de la retina y recientemente, aplicación de células madre embrionarias (stem cells) con capacidad para autorrenovarse y transformarse en diferentes tipos celulares especializados. Estas células pueden sobrevivir e integrarse funcionalmente en el núcleo estriado. El principal objetivo de la terapia celular consiste en reemplazar las células que se han degenerado por otras que puedan suplir su función.

Palabras clave: Enfermedad de Parkinson, dopamina, terapia celular, células madre.

INTRODUCCIÓN

Factores de riesgo y epidemiología de la enfermedad de Parkinson

La enfermedad de Parkinson (EP) es una degeneración neuronal crónica en las neuronas del estriado (núcleo putamen y caudado) con déficit en la sín-

Cellular therapy and application of stem cells in Parkinson's disease (Review)

ABSTRACT

The Parkinson's disease is a chronic neuronal degeneration of the striate nuclei with dopamine ($C_6H_3(OH)_2-CH_2-CH_2-NH_2$) deficit synthesis and dysfunction of the movement of multifactorial origin. The most effective pharmacological treatment is however the oral administration of levodopa (L-3,4-Dihydroxyphenylalanine), a precursor that transforms into dopamine, long term complications appear, as bad movement and resistance to the treatment. The cellular therapy consists on transplant dopaminergic cells of diverse cellular stocks as suprarrenal marrow, nervous cells, cromaphin cells, mesencephalic fetal cells, retinal pigmented epithelium and recently, application of embryonic cells (stem cells) with autogenerate capacity and become specialized different cellular types. These cells can survive and can be integrated functionally in the striate nuclei. The main objective of the cellular therapy consists on cell replacing that have degenerated for others cells that can replace its function.

Key words: Parkinson's disease, dopamine, cellular therapy, stem cells.

tesis de dopamina ($C_6H_3(OH)_2-CH_2-CH_2-NH_2$) y trastorno del movimiento que afecta a diversas partes del cuerpo. Sin embargo, se ha confirmado que la EP no es una enfermedad única, sino que tiene un carácter multifactorial. La EP es una de las enfermedades degenerativas de mayor prevalencia, afecta a 1% de la población mayor de 65 años. Su rasgo histológico característico es la presencia de cuerpos

de Lewy en la sustancia negra, junto con una pérdida de neuronas dopaminérgicas superior a 80%. La causa se desconoce, aunque se acepta que hay un componente genético. El tratamiento farmacológico más eficaz es la administración oral de levodopa (L-3,4-dihidroxifenilalanina), un precursor que se convierte en la catecolamina dopamina en el cerebro gracias a las neuronas dopaminérgicas y nitrérgicas que aún sobreviven en la sustancia negra pars compacta (SNpc) (Figura 1).^{1,2} La levodopa induce una espectacular mejoría y es especialmente efectiva, administrada 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.²

La EP es la segunda enfermedad neurodegenerativa más frecuente después de la enfermedad de Alzheimer afectando aproximadamente a 15% de las personas mayores de 65 años. La EP cursa con la muerte progresiva de las neuronas dopaminérgicas de la SNpc (Figuras 2 y 3). La principal consecuencia de esta pérdida neuronal es una disminución en la disponibilidad cerebral de dopamina en el núcleo caudado y en el putamen, lugar donde proyectan las neuronas dopaminérgicas de la SNpc, originándose una disfunción en la regulación de las principales estructuras cerebrales implicadas en el control del

movimiento, los ganglios basales. La EP fue descrita inicialmente en 1817 por James Parkinson, quien la describió como “parálisis temblorosa”, cuyos síntomas principales son: discinesias (temblor en las manos, brazos, piernas, mandíbula y cara; rigidez de las extremidades y el tronco), bradicinesia o lentitud de movimiento e inestabilidad postural o problemas de equilibrio.³ A medida que estos síntomas se hacen más pronunciados, los pacientes tienen dificultad para caminar, hablar y realizar otras tareas simples. El origen de la EP es multifactorial y se debe a cuatro mecanismos: estrés oxidativo, predisposición genética, exposición a tóxicos ambientales o del propio organismo y envejecimiento acelerado. Los primeros síntomas aparecen cuando se produce la pérdida de la mitad de las neuronas dopaminérgicas de la sustancia negra. Actualmente se utilizan las siguientes pruebas como biomarcadores de la EP: técnicas de imagen como neuroimagen funcional, tomografía por emisión de positrones (PET), tomografía computarizada de emisión de fotón único (SPECT) y ultrasonido transcraneal; pruebas clínicas como las afectivas y psicológicas, neurofisiológicas, olfatorias, visuales, etc., y por último, pruebas bioquímicas y genéticas como la concentración sanguínea de sinucleína, malondialdehído, radicales superóxido, etc.³ Para la EP existen factores de riesgo hereditarios y factores modificables, como el medio ambiente, el consumo de agua contaminada, la ex-

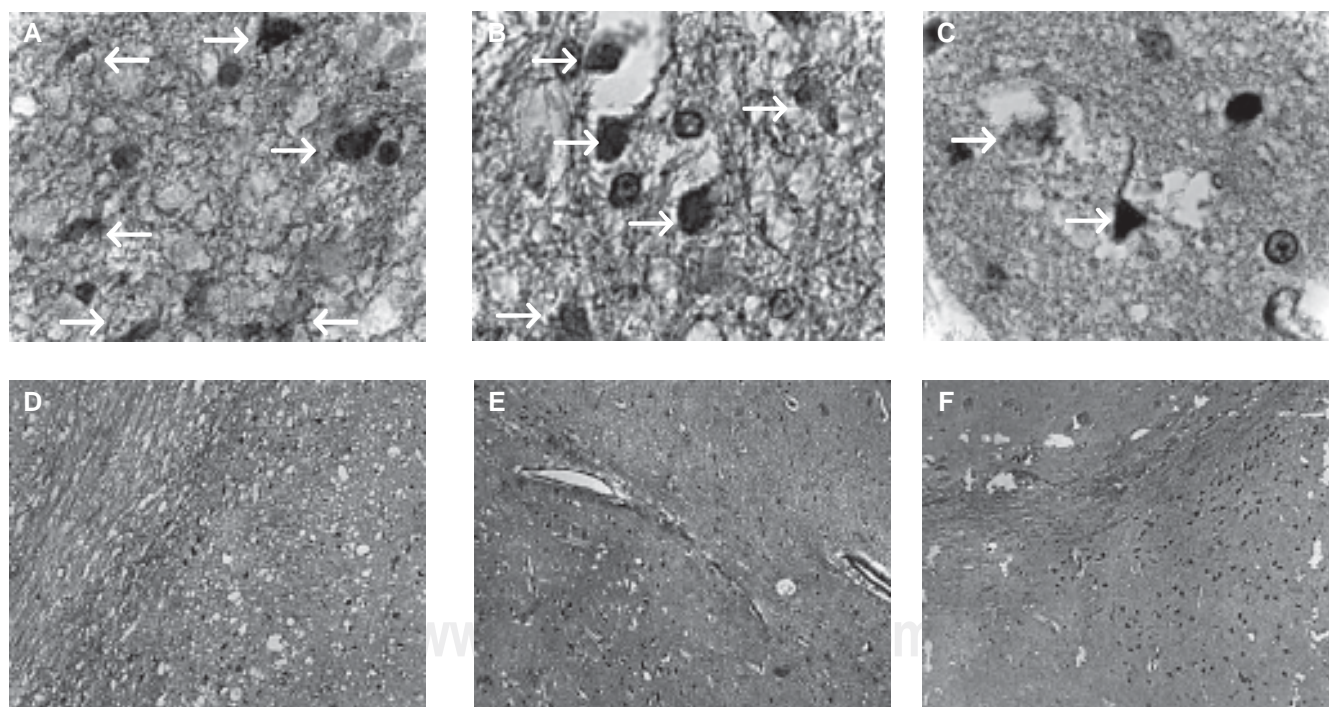


Figura 1. Neuronas dopaminérgicas y nitrérgicas (SNpc) del núcleo estriado. **A, B y C.** Neuronas nitrérgicas (→). 1000x. **A.** Sintasa de óxido nítrico neuronal (nNOS). **B.** Sintasa de óxido nítrico inducible (iNOS). **C.** Sintasa de óxido nítrico endotelial (eNOS). **D, E y F.** Neuronas dopaminérgicas y nitrérgicas. 100x. **D.** Neuronas dopaminérgicas y nitrérgicas que expresan nNOS. **E.** Neuronas dopaminérgicas y nitrérgicas que expresan iNOS. **F.** Neuronas dopaminérgicas y nitrérgicas que expresan eNOS.

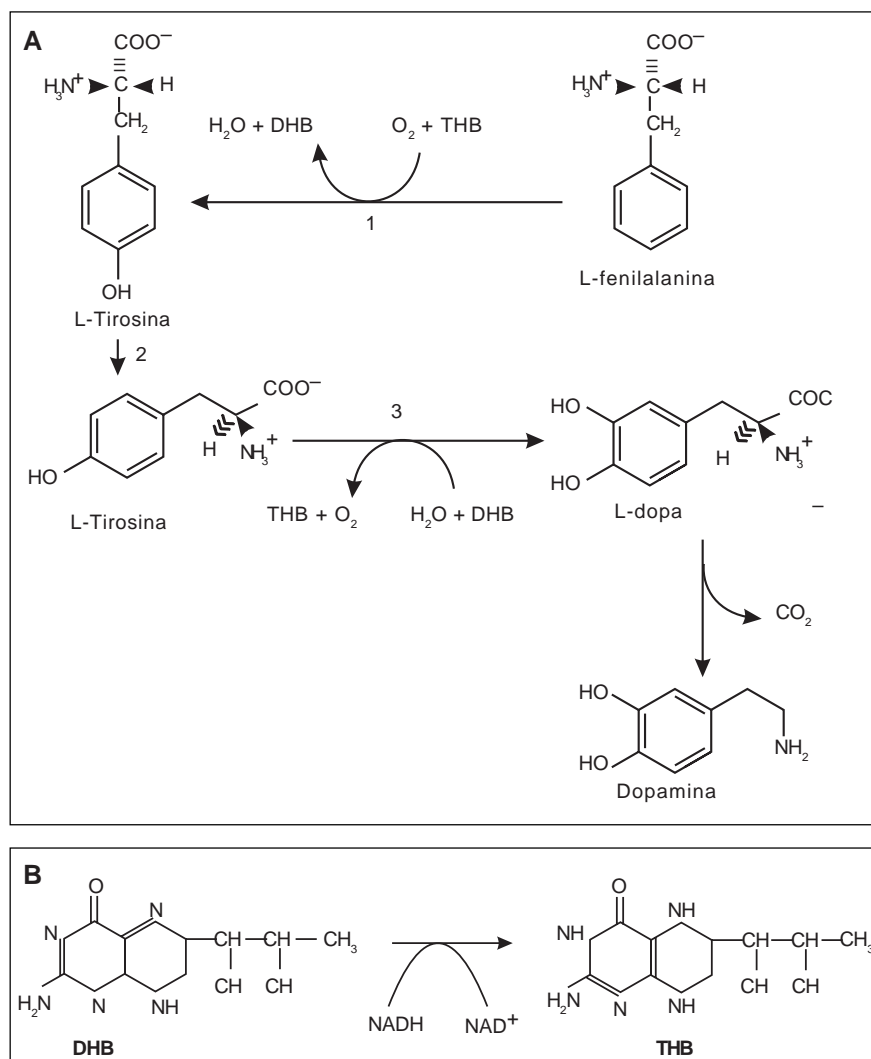


Figura 2. Síntesis y metabolismo de la dopamina. **A.** La síntesis de dopamina tiene tres pasos: La fenilalanina es convertida en tirosina por la enzima fenilalanina hidroxilasa (FH). La tirosina se convierte en DOPA (dihidroxifenilalanina) por la enzima tirosina hidroxilasa (TH). La DOPA se convierte en dopamina por la enzima dopa descarboxilasa (DC). Posteriormente, la dopamina se metaboliza a noradrenalina y a adrenalina. **B.** Cofactores que también participan en la vía de síntesis del óxido nítrico en las neuronas nitrérgicas: DHB = Dihydrobiopterina y THB = Tetrahydrobiopterina.

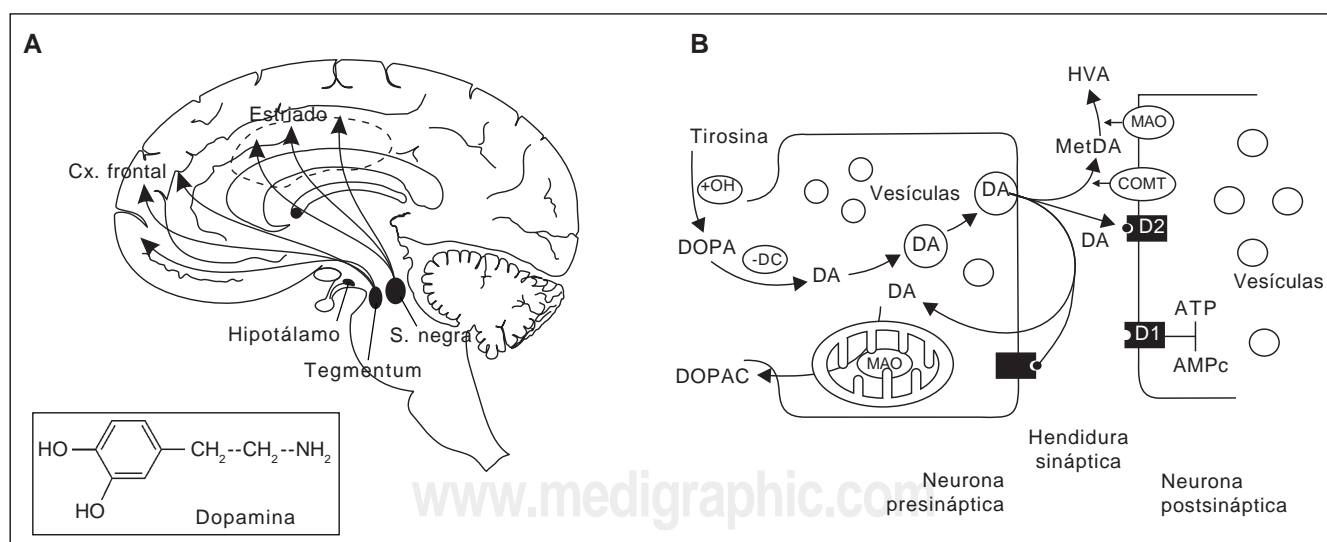


Figura 3. A. Vías dopaminérgicas, núcleo estriado y molécula desarrollada del neurotransmisor dopamina. Estas vías están afectadas en las enfermedades de Parkinson, Huntington y esquizofrenia, también se encuentran asociadas a la neurobiología de las adicciones. **B.** Sinapsis dopaminérgica, donde se muestran esquemáticamente los elementos pre y postsinápticos. Los receptores D1 se acoplan a la estimulación de la actividad de la adenilciclase, mientras que los receptores D2 inhiben la actividad del enzima. DA = Dopamina. MAO = Monoaminoxidasa. COMT = Catecol-oxi-metiltransferasa.

posición a pesticidas, los traumatismos craneoencefálicos (TCE) y el consumo de tabaco. Los cerebros de fumadores tienen una reducción de 40% de la forma B de la monoaminoxidasa (MAO), una enzima selectiva para la degradación metabólica de la dopamina y su inhibición se asocia con una actividad reforzada de este neurotransmisor, así como una producción disminuida de peróxido de hidrógeno, que es una fuente de las especies reactivas de oxígeno (ERO).⁴ La inhibición de MAO B también puede tener efectos secundarios en otros neurotransmisores, como la serotonina y la noradrenalina, a través de interacciones complejas con la dopamina. Además se han encontrado niveles comparables de MAO en los ex fumadores y en los no fumadores.⁵ La hipótesis más aceptada es la ecogenética, que incluye factores genéticos y ambientales, los cuales parecen ser los principales determinantes.⁶ Existe una alta frecuencia de antecedentes familiares en personas afectadas por EP. Estudios epidemiológicos han demostrado que la prevalencia del EP es mucho mayor en Europa y Norteamérica que en Asia y África; además, la mortalidad es menor en sujetos de raza negra que blanca.⁷ Se ha observado agrupación de EP en ciertas familias y grupos étnicos. Sin embargo, el entorno y el estilo de vida pueden activar los genes involucrados en la EP, aunque todavía no se ha identificado ningún gen como el responsable en la EP idiopática, ni la herencia genética como factor de riesgo para padecer la enfermedad.⁸

La EP es todavía una enfermedad incurable y no se conocen con precisión sus causas, puede afectar a toda la población, sin distinción de edad. Esta enfermedad crónica neurodegenerativa es muy frecuente en el anciano y las tasas de prevalencia se incrementan con la edad. Además ciertos factores ambientales o endógenos impactan sobre el circuito nigroestriado dopaminérgico cuando éste se encuentra funcionalmente deteriorado debido al envejecimiento.⁹ Algunos estudios epidemiológicos no han demostrado diferencias en la prevalencia de la EP según el sexo, sin embargo, la enfermedad podría afectar más a los varones con una prevalencia casi tres veces superior a la de las mujeres.¹⁰ Los traumatismos craneoencefálicos (TCE) también pueden ser una de las causas del parkinsonismo o pueden agravar la enfermedad en pacientes con el diagnóstico establecido.¹¹ Las neurotoxinas también son un factor de riesgo para la EP, como es el caso del compuesto químico 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina (MPTP). Las propiedades neurotóxicas del compuesto MPTP causan un síndrome de parkinsonismo similar a la EP. Además, su metabolito MPP⁺ se encuentra en pesticidas. Algunos metales pesados como el hierro, el mercurio y el plomo tam-

bién se han asociado a la EP. Se ha demostrado un aumento de la concentración de hierro total y de Fe³⁺ en la sustancia negra de pacientes parkinsonianos.¹² La 1,2,3,4 tetrahydroisoquinolina (TIQ) y la 1,2,3,4-tetrahydro-beta-carbonilo (THbetaC) son dos proneurotoxinas del sistema dopaminérgico que se han relacionado con la etiología de la EP. También se sabe que el fumar puede prevenir la acumulación de estas proneurotoxinas en el cerebro ya que la reacción entre TIQ y THbetaC con algunos componentes del humo del tabaco actúa como un mecanismo neuroprotector para la EP.¹³ También se ha demostrado que existe estrés oxidativo en la EP. El aumento de la producción de radicales libres y la insuficiencia del mecanismo defensivo antioxidante desempeña un papel en la etiología de la enfermedad.¹⁴ Se ha observado un aumento de peroxidación lipídica en las células cerebrales dopaminérgicas, también se sospecha que una ingesta suficiente de antioxidantes en la dieta o en suplementos como la vitamina E y el Xango® (Concentrado de xantonas), disminuye el riesgo de Parkinson o desacelera su progreso.¹⁵

Causas genéticas de la enfermedad de Parkinson

La EP se puede clasificar como juvenil (EPJ) cuando la edad de inicio es igual o inferior a 20 años, de inicio temprano (EP-IT) cuando la edad es entre 21 y 40 años, y tardía con 70 o más años. En los pacientes con EP-J y EP-IT se observa de forma autosómica recesiva (AR), aunque existen pacientes aislados y escasas familias con patrones autosómicos dominantes. En 1997 se halló un ligamiento al cromosoma 6q25.2-q27 (PARK-2)¹⁶ y más tarde se encontró que la mutación del gen *parkin* era la responsable del EPJ en las familias japonesas. Los defectos del gen *parkin* tienen una distribución mundial y más de 70 mutaciones se han descrito hasta ahora. El 49% de la EP-IT con patrón AR se encuentra en familias europeas,¹⁷ en las cuales se observa una edad media de 32.11 años. Otros estudios han demostrado mutaciones en 17% de pacientes con EP-IT aislados.¹⁸ La mayoría de pacientes con mutaciones del gen *parkin* tiene el cuadro clínico clásico de la EP, pero también se han descrito pacientes con neuropatía, trastornos de conducta, disautonomías, inicio después de los 50 años y respuesta marcada a los anticolinérgicos o los agonistas dopaminérgicos. También se han identificado tres nuevos *loci* para la EP-AR en el cromosoma 1p: *PARK 6*, *PARK 7* y *PARK 9*.^{19,20}

En 2001, en tres familias italianas no relacionadas con patrón AR, se halló ligamiento en el cromosoma 1p35-p36. La media para la edad fue de 38.6

años. Un año más tarde, en 28 familias europeas sin mutación del gen *parkin* con EP-AR, se detectaron ocho familias con ligamiento al *PARK 6*. Su fenotipo era muy similar al descrito en las familias con mutaciones del gen *parkin*, pero con mayor edad de inicio de los síntomas parkinsonianos. En una familia con cuatro pacientes procedente de una región genéticamente aislada del sureste de Holanda con EP-AR, se obtuvo ligamiento en el cromosoma 1p 36 (*PARK 7*), con una edad de inicio entre los 27 y los 40 años, además se observó mutación del gen *DJ-1*.²¹ En 1994 se describió una familia de Jordania con parkinsonismo juvenil (edad de inicio entre 11-16 años) que se presentó en cinco de nueve hijos de padres consanguíneos, asociado a demencia, rápida progresión de los síntomas, espasticidad, respuesta elevada a la levodopa, paresia a la mirada supranuclear y atrofia palidal. Se denominó síndrome de Kufor-Rakeb, debido a la localidad en la cual vivía esta familia.²² Las mutaciones del gen *parkin* (*PARK 2*) constituyen un porcentaje importante, tanto en los que tienen un patrón AR como en los casos aislados.²³

TRATAMIENTO

El tratamiento convencional de la EP es farmacológico y quirúrgico, aunque ninguna de estas terapias solas o combinadas modifica el curso clínico de la enfermedad.³ La levodopa fue el primer medicamento dopaminérgico empleado en el tratamiento de la EP, a diferencia de la dopamina que no atraviesa la barrera hematoencefálica, la levodopa penetra en los ganglios basales, donde es captada por células que poseen transportadores para dicho neurotransmisor y una vez descarboxilada a dopamina, se convierte en neurotransmisor. Su administración crónica produce complicaciones motoras y para conseguir el efecto terapéutico cada vez son necesarias dosis más elevadas. Los efectos secundarios consisten en fluctuaciones motoras (periodos de mala y buena movilidad alternantes a lo largo del día y en relación a la toma del fármaco) y discinesias (movimientos involuntarios) durante la fase de buena movilidad. Los efectos secundarios aparecen a partir de los 2-3 años de iniciarse el tratamiento y normalmente tras 5 años 59% de los pacientes presentan fluctuaciones motoras y 41% discinesias. La combinación de levodopa con un inhibidor de la descarboxilación periférica como carbidopa o benserazide permite que un mayor porcentaje de levodopa penetre en el cerebro. Similarmente, los inhibidores de la catecol-oximetiltransferasa (COMT), prolongan la vida media de la levodopa y de la dopamina. El inhibidor de MAO-B selegiline (Eldepryl, Emsam), revierte la sintomatología.²⁴ La cirugía funcional estereotáxica emplea-

da desde 1939 reduce el temblor y la rigidez. Actualmente la cirugía funcional estereotáxica está indicada en pacientes que no responden bien al tratamiento farmacológico.³ Los procedimientos que se realizan son: procedimientos de lesión (palidotomía y talamotomía) y procedimientos de estimulación (Deep Brain Stimulation; DBS) como estimulación talámica, subtalámica y palidal.²⁵

Trasplante de células secretoras de dopamina

La dopamina se sintetiza en una serie de pasos que comienzan a partir del precursor L-tirosina, aminoácido esencial presente en todos los tipos celulares (Figura 2). La primera reacción, que limita, se cataliza por la tirosina hidroxilasa (TH), la cual necesita tres cofactores para realizar su función: tetrahidrobiopterina (BH_4), hierro y oxígeno. El segundo paso se cataliza por la L-amino descarboxilasa aromática (AADC), que utiliza piridoxal 5' fosfato (PLP) como cofactor. La enzima GTP ciclohidrolasa I (GTPCH I) cataliza el primer paso de esta secuencia de reacciones. Con el objetivo de aumentar los niveles de dopamina en el estriado, estudios se han basado en la clonación del gen de la TH. Se han utilizado astrocitos modificados genéticamente por introducción de un ADNc de la TH, bajo el control del promotor específico de astrocitos derivado del gen de la proteína ácida fibrilar glial (GFAP). La utilización de este promotor tiene ciertas ventajas, ya que su regulación está condicionada por señales extracelulares como la gliosis, que ocurre en respuesta a daños cerebrales, y por señales intracelulares, como las variaciones en los niveles de AMPc.²⁶

El trasplante de células productoras de dopamina en el estriado se ha considerado un abordaje racional en la EP porque existe un daño selectivo de neuronas de la SNpc y déficit de dopamina que puede suplirse parcialmente por fármacos dopaminérgicos. La administración oral de levodopa induce una estimulación pulsátil de los receptores dopaminérgicos postsinápticos, además el estriado es una estructura fácilmente accesible por cirugía.²⁷ En 1979 se iniciaron los primeros trasplantes experimentales en el modelo de la rata con lesión unilateral por 6-hidroxi-dopamina (6-OHDA).²⁸ Entre las diferentes estirpes de células dopaminérgicas, los mejores resultados se obtuvieron con las células nigricas mesencefálicas y las células cromafines de la médula adrenal. Se observó que las células implantadas podían sobrevivir, producir dopamina y mejorar los trastornos motores. Más tarde, estos hallazgos se reprodujeron en primates tratados con MPTP, tanto con células mesencefálicas como en la médula adrenal.²⁹ Se demostró que la persistencia del beneficio

motor se correlaciona con la supervivencia e integración funcional del tejido implantado. En este sentido los resultados han sido superiores con mesencéfalo fetal: los implantes llegan a sobrevivir más tiempo, reinervan el estriado con un patrón organotópico y forman conexiones sinápticas, lo que se acompaña de recuperación funcional, también se estudiaron métodos que podían aumentar la supervivencia del tejido adrenal, como la infusión del factor de crecimiento nervioso (NGF)³⁰ y más tarde realizaron cotrasplantes de médula suprarrenal con otros tejidos que pudieran aportar este u otros factores neurotróficos como las células gliales o fragmentos de nervio periférico. Los factores neurotróficos aumentan la viabilidad de las células implantadas e inducen además arborización (*sprouting*) de las fibras dopaminérgicas del cerebro huésped.³¹ También se han desarrollado técnicas de sustitución celular y trasplantes intracerebrales de células secretoras de dopamina (dopaminotróficas) o de moléculas neuroprotectoras.³² El trasplante de células secretoras de dopamina aporta una fuente constante de dopamina tan eficiente como la administración de levodopa. 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 suprarrenal o las células glómicas, mejoran la sintomatología parkinsoniana en modelos animales de EP.³³ Las células mesencefálicas fetales tomadas de embriones abortados pueden sobrevivir y funcionar en el cerebro de pacientes de EP y muchos pacientes trasplantados muestran una mejoría funcional; pero existen factores limitantes como la terapia inmunosupresora para disminuir el rechazo, los problemas éticos, prácticos y de seguridad.³⁴ El epitelio pigmentado de la retina contiene células productoras de levodopa y dopamina, que pueden cultivarse y encapsularse con microtransportadores de gelatina (Esferamina®). Estas células microencapsuladas pueden sobrevivir en el estriado de ratas y primates, y producir mejoría del déficit motor. La reacción inflamatoria que producen en el cerebro huésped es mínima en ausencia de inmunosupresión. En monos tratados con MPTP se ha demostrado, mediante PET con ¹⁸F-dopa y con ¹¹C-raclopride, que estas células liberan dopamina *in vivo*.^{3,38}

Trasplante de médula suprarrenal

En México, Madrazo y cols. en 1987 trataron dos pacientes mediante cirugía abierta, donde se implantaron unilateralmente fragmentos de médula suprarrenal en una cavidad creada en el núcleo caudado, en comunicación con el ventrículo lateral. Los resultados comunicados fueron espectaculares y se

confirmaron posteriormente en una serie de 42 pacientes.³⁵ La técnica utilizada por un grupo sueco en cuatro pacientes fue, al igual que la experimentación animal, la implantación estereotáctica unilateral en el estriado con resultados controversiales, también se realizaron otros implantes de cantidades variables de tejido mediante cirugía estereotáctica en el putamen o en el caudado, más frecuentemente de forma unilateral. La adrenalectomía previa se realizó por vía abdominal o en algunos casos por vía retroperitoneal y se utilizaron distintas técnicas de perfusión y preparación del tejido.³⁵ Sin embargo, las tinciones inmunohistoquímicas para TH han sido negativas o con escasa proliferación de fibras TH positivas rodeando la zona del implante.³⁶ Se han descrito complicaciones potencialmente serias, como hemorragias intracraneales, crisis comiciales o cuadros confusionales posquirúrgicos. En un paciente que falleció tras desarrollar una hidrocefalia obstructiva por migración del tejido implantado al cuarto ventrículo, la autopsia reveló que se trataba de un material compuesto de hueso, cartilago, pelo y epitelio escamoso. El tratamiento inmunosupresor se ha asociado en algunos pacientes con afectación renal o infecciones oportunista sobre todo cuando se ha mantenido a largo plazo.³⁷ La aparición de discinesias persistentes en los periodos *off*, en movimientos estereotipados de los miembros inferiores, similares a las discinesias bifásicas también es una complicación que se desarrolla con leve o moderada intensidad. Para explicar el origen de estas discinesias en situación *off*. Se ha planteado que podrían deberse a un exceso de dopamina global producido por el trasplante o con un desequilibrio regional en la función dopaminérgica estriatal.³⁷

Trasplantes de mesencéfalo

En modelos animales de EP, las células del mesencéfalo ventral del cerdo en desarrollo son capaces de sobrevivir en el estriado y corregir el déficit motor. Los trasplantes entre especies (xenotrasplantes) representan una solución a los problemas de disponibilidad de tejidos y órganos.³⁸ Lindvall y cols. realizaron por primera vez trasplantes de mesencéfalo fetal humano mediante estereotaxia en dos pacientes con EP. Ellos documentaron una mejoría progresiva desde los 2-3 meses y continuó durante los tres años de control clínico.³⁹ En México, se realizaron trasplantes mediante cirugía abierta en el núcleo caudado.⁴⁰ En otras partes del mundo, se ha generalizado la técnica estereotáctica empleada por Lindvall y cols., la cual incluye inmunosupresión previa y posterior con ciclosporina.⁴¹ La supervivencia a largo plazo del tejido implantado es cerca de 5%. Esta supervivencia neuronal se pue-

de incrementar con exposición a factores neurotróficos, a sustancias antioxidantes y a agentes antiapoptóticos como los inhibidores de caspasas. Los antioxidantes duplican la supervivencia de las células mesencefálicas tanto *in vitro* como *in vivo* en la rata.⁴² Estudios realizados en ratas lesionadas con 6-OHDA y en primates tratados con MPTP, han demostrado que los trasplantes intranigricos pueden reinervar y producir una recuperación funcional completa.^{41,43} Los resultados del trasplante de mesencéfalo fetal humano se puedan optimizar si se interviene pacientes más jóvenes y/o menos afectados si se utiliza una mayor cantidad de tejido para atenuar la degeneración progresiva del sistema nigroestriado.⁴³ Cada centro de investigación estandariza las condiciones del trasplante respecto a la disección del material fetal, edad de los donantes fetales, tipo de almacenamiento tras la disección, tipo de disociación tisular previo al implante y composición del medio usado en la inyección. En situación óptima, se puede obtener hasta un 80% de neuronas que expresan TH, la enzima limitante de la síntesis de dopamina. Se asume un buen efecto terapéutico cuando se contabilizan ~ 100,000 neuronas funcionales en ambos hemisferios, cuando existe recuperación de un 50% de la tasa normal de captación de ¹⁸F-dopa en el núcleo y medida de la reinervación del volumen estriatal. Otro aspecto de la composición tisular que requiere atención es que en el mesencéfalo ventral donante hay dos subtipos de neuronas dopaminérgicas, A9 y A10. La reinervación procedente de axones de neuronas A9 ejerce mayor mejoría clínica.⁴⁴ La eficacia del tratamiento con y sin administración de inmunosupresores disminuye en función de la gravedad de la lesión y se recomienda en los casos en que existe una buena respuesta previa a la L-dopa. Además, la aparición de respuesta inflamatoria local compromete la supervivencia neuronal. Los primeros seis meses postrasplante son clave en la evolución clínica de estos pacientes.³ Otra opción terapéutica consiste en trasplantar células madre derivadas de la médula ósea, las cuales son capaces de diferenciarse en neuronas dopaminérgicas *in vivo*. También se pueden establecer cultivos a partir de precursores neuronales y neuroblastos dopaminérgicos. El cultivo de estas células en un medio conteniendo un factor de la familia de receptores nucleares Nurr, el factor de crecimiento de fibroblastos y el ácido ascórbico expresan un fenotipo similar al de las neuronas dopaminérgicas cerebrales sin que coexpresen otros neurotransmisores como el GABA o la serotonina. Las células neuronales multipotentes provenientes de primates se cultivan y expanden *in vitro* como neuroesferas, por ello su contenido en progenitores de neuronas dopaminérgicas es muy elevado. El trasplante de estas células

revierte la asimetría motora inducida por drogas y mejora las pruebas neurológicas motoras y la captación de ¹⁸F-dopa en primates.⁴⁵

Trasplante de agregados cromafines

El cuerpo carotídeo contiene células glómicas dopaminérgicas que actúan como quimiorreceptores y sintetizan un factor neurotrófico derivado de una línea celular glial, el factor neurotrófico derivado de la glía (GDNF) y tienen gran capacidad neuroregenerativa.^{46,47} Además se pueden obtener del paciente (auto trasplante) ya que el cuerpo carotídeo es fácilmente accesible y su resección unilateral no conlleva problemas clínicos relevantes.³⁸ También se pueden obtener células dopaminérgicas del ganglio simpático cervical superior, aunque se puede presentar el síndrome de Horner (miosis, ptosis, enoftalmos y sequedad facial).⁴⁸ El tejido mesenquimatoso y cromafín extraadrenal noradrenérgico del paraganglio de Zuckerkandl expresa TH, así como dopamina-beta-hidroxilasa (DBH), la enzima que sintetiza noradrenalina. Estas células cromafines pueden inducir mejoría funcional progresiva en ratas hemiparkinsonianas con reinervación estriatal, incremento en la concentración de dopamina, GDNF y factor de crecimiento transformante β 1 (TGF- β 1).⁴⁹ Las células testiculares de Sertoli pueden sobrevivir y mejorar el déficit motor en ratas con lesión unilateral por 6-OHDA y ejercen efectos tróficos sobre células dopaminérgicas. Las células PC12 derivadas de feocromocitoma de rata, producen levodopa y dopamina, se han trasplantado en modelos animales de EP.³⁸

Aplicación de células madre y terapia celular

Las células madre o troncales (stem cells) son células indiferenciadas con capacidad para autorrenovarse y transformarse en diferentes tipos celulares especializados, además se pueden obtener de diversos orígenes. Las células madre bajo determinadas condiciones son capaces de autorrenovarse por largos periodos y pueden permanecer en estado totipotencial hasta que reciben determinada señal, en respuesta a la cual dan origen a células especializadas. Actualmente, las células madre se exploran como un vehículo de liberación de genes en tejidos específicos, lo que podría ser una opción en el tratamiento de la EP.⁵⁰ Las células madre embrionarias se obtienen de la masa celular interna del blastocisto preimplantatorio (4-5 posconcepción), son pluripotenciales y poseen una elevada capacidad de autorrenovación. Estas células pueden diferenciarse en células dopaminérgicas *in vitro* tras trasplantarse

en roedores.⁵¹ Estas células diferenciadas pueden sobrevivir e integrarse funcionalmente en el estriado de rata con lesión por 6-OHDA.²⁵ Se han obtenido células madre embrionarias de ratón mediante transferencia nuclear de células somáticas (clonación terapéutica) con este método se obtienen células dopaminérgicas diferenciadas del mismo individuo sin posibilidad de rechazo inmunológico.⁵² Las células precursoras inmaduras son células neurales que se obtienen del mesencéfalo embrionario de pocas semanas de desarrollo. Aunque han perdido potencialidad, pueden expandirse y diferenciarse en neuronas dopaminérgicas con baja supervivencia. También se han obtenido células precursoras mesencefálicas humanas con neuronas dopaminérgicas.⁵³ Las células madre extraneurales del adulto son células indiferenciadas que se obtienen de distintos tejidos del organismo con el objetivo de contribuir a su mantenimiento y reparación, conservan la capacidad de autorrenovarse y de diferenciarse en células del mismo tejido donde residen (multipotencialidad), también pueden dar lugar a células de tejidos diferentes, mediante el proceso denominado transdiferenciación si reciben las señales adecuadas.⁵⁴ Las células madre neurales del adulto pueden formar todos los tipos celulares del sistema nervioso y adoptan el fenotipo de la región donde se implantan. La neurogénesis declina con la edad y se correlaciona con la aparición de enfermedades neurodegenerativas. Se han identificado células madre neurales en la sustancia negra del adulto y pueden generar células gliales o neuronas.⁵⁵

El principal objetivo de la terapia celular consiste en reemplazar las células que se han degenerado por otras que puedan suplir su función. Las células que se implantan en la sustancia negra y producen dopamina tienen potencial neurorestaurador, lo que confirma que la terapia celular es neuroprotectora. Las estirpes celulares que se han utilizado con éxito son: las células madre fetales y adultas; las células de la carótida (productoras de dopamina y de factores neurotróficos); las células de médula suprarrenal (productoras de dopamina) y las células que liberan factores tróficos y promueven la supervivencia de neuronas que aún no han degenerado, como las células de Schwann, astrocitos, células modificadas genéticamente, etc. Los efectos secundarios de la terapia celular son infecciones, rechazos, injerto contra huésped, degeneración de las células implantadas, problemas morales y éticos y crecimiento incontrolado (teratomas) con el uso de células madre fetales, por su gran capacidad proliferativa, difícil de controlar y por su diferenciación impredecible. En cambio, las células madre adultas no generan tumores, pero su potencial de regeneración es menor.⁵⁶

Aplicación de factores neurotróficos

Los factores tróficos son moléculas proteicas, producidas por diferentes tipos celulares y regulan la biología celular tanto en tejidos embrionarios como adultos. Estos factores estimulan la diferenciación celular en el embrión, mientras que en el adulto, los factores neurotróficos son necesarios para la supervivencia de las neuronas. Las células dopaminérgicas nigroestriatales son sensibles tanto *in vitro* como *in vivo* a la acción de distintos factores neurotróficos, principalmente GDNF, coenzima Q10, factor neurotrófico derivado de cerebro (BDNF), TGF- β , neurotrofina 4 (NF-4), factor de crecimiento similar a insulina (IGF), factor de crecimiento fibroblástico (FGF) y factor del crecimiento derivado de plaquetas (PDGF). El GDNF es un factor neurotrófico dopaminérgico muy potente y es más efectivo que otros factores como el BDNF, TGF β 3, NTN, NT4/5, CNTF.⁵⁷ El GDNF es capaz de proteger las neuronas dopaminérgicas de la sustancia negra tanto de la axotomía como de la degeneración inducida por neurotoxinas tales como la neurotoxina MPTP o la neurotoxina 6-OHDA. La administración exógena de GDNF produce la recuperación funcional en modelos animales (roedores y primates) de la EP. Esta molécula proteica es muy lábil, se degrada con gran facilidad y casi no atraviesa la barrera hematoencefálica. El GDNF administrado por vía intracerebroventricular alivia los síntomas de la EP, promueve la regeneración de las neuronas dañadas y aumenta los niveles de dopamina.⁵⁷ Las micropartículas con GDNF, L-DOPA/carbidopa, dopamina o norepinefrina pueden prepararse con polímeros biodegradables tipo (PLGA) poly lactic-co-glycolic acid cuyos productos de degradación son atóxicos.⁵⁷

Aplicación de vectores dopaminotróficos

Otra estrategia terapéutica de trasplante es introducir moléculas neuroprotectoras con acción dopaminotrófica. El GDNF y BDNF poseen potentes efectos *in vivo* e *in vitro* sobre neuronas dopaminérgicas. También se han obtenido buenos resultados con fibroblastos modificados genéticamente secretores de GDNF y BDNF, así como con vectores virales que expresan GDNF. Los efectos neuroprotectores *in vivo* permiten el rescate de un 40 a un 70% de las neuronas dopaminérgicas.⁵⁷ El TGF- β 1 es otro factor neurotrófico que protege las neuronas dopaminérgicas *in vitro*, también es un cofactor que potencia la actividad de GDNF tanto *in vitro* como *in vivo*. Los efectos antiparkinsonianos de los trasplantes celulares cromafines adrenales son debidos a la liberación de dopamina, a la reinervación dopaminérgica.

gica del estriado denervado y a la expresión y liberación de GDNF y TGF- β 1. Estas células inducen la arborización de las neuronas supervivientes dopaminérgicas, dando lugar a una reinervación del estriado dañado.⁵⁸

Terapia génica (TG)

Existen dos formas de introducir los productos génicos en la EP: la TG *ex vivo*, mediante la cual se usan células de origen neural o no neural modificadas genéticamente *in vitro* con el sistema de expresión deseado, que luego se implantan en el SNC, y la TG *in vivo*, que se lleva a cabo por el tratamiento directo del cerebro *in situ* con vectores, ya sean virales o no virales, que expresan el o los genes de interés terapéutico. Estos vectores pueden ser virales como adenovirus, herpesvirus, lentivirus, etc., o no virales como liposomas, ADN desnudo y complejos ADN-proteínas. Se han obtenido buenos resultados con transducción triple de TH, AADC y guanidil trifosfato cliclohidrolasa I (GTPCH I), las principales enzimas que intervienen en la síntesis de dopamina.⁵⁹ Se han hecho estudios en modelos de la EP en ratones con doble transfección con TH y GTPCH I *in vivo* y *ex vivo*. En todos los casos se demostró que se necesita la presencia de ambos genes para lograr una mayor producción de L-dopa. Todavía no se ha aclarado la importancia de suministrar AADC *in vivo*, pues aunque en la EP hay pérdida de la mayoría de neuronas dopaminérgicas, las cuales constituyen la fuente principal de esta enzima, en el SNC de estos pacientes la L-dopa se convierte en dopamina.⁶⁰ Uno de los métodos usados para facilitar una fuente de L-dopa ha sido la transferencia génica de AADC *in vivo* conjuntamente con la administración sistémica de L-dopa. La L-dopa se suministra con la carbidopa (inhibidor periférico de la AADC), para reducir el catabolismo de la L-dopa y prolongar sus niveles plasmáticos y cerebrales. Esta estrategia tiene un beneficio limitado porque los niveles de AADC disminuyen con el progreso de la enfermedad y, por tanto, evita la conversión de L-dopa en dopamina en cantidades suficientes; este tratamiento es efectivo en los primeros estadios de la enfermedad, pero, a medida que la enfermedad progresa, la efectividad disminuye. Con el objetivo de resolver este problema se liberó AADC por medio de un vector viral adenoasociado en el estriado y se demostró que después de la restauración de los niveles de la enzima y, por tanto, de una conversión de la L-dopa en dopamina más eficiente, se puede lograr una mejor respuesta a la L-dopa/carbidopa en estados más avanzados de la enfermedad.⁶¹ Se ha demostrado que la inyección intraestriatal de vectores virales que expresan GDNF promueve la generación dopaminérgica y mejora el

déficit motor en modelos animales de EP. En la construcción regulable del oncogén *v-myc*, las células transfectadas pierden la capacidad de formar tumores cuando se implantan en el hospedero. También se han administrado vectores virales que sobreexpresan una proteasa antiapoptótica.⁶²

La inyección en el núcleo subtalámico (NST) de virus que expresan descarboxilasa del ácido glutámico (GAD) se acompaña de mejoría motora, debido al incremento del neurotransmisor inhibidor ácido γ -aminobutírico (GABA), lo que regula la hiperactividad del NST.⁶³ El trasplante de células modificadas genéticamente (terapia génica *ex vivo*) se obtiene de cultivos neuronales. Estas células se han obtenido de fibroblastos, astrocitos, de médula ósea, de líneas celulares inmortalizadas, de células madre y pueden multiplicarse, sobrevivir e integrarse fácilmente bien al cerebro huésped. Los astrocitos constituyen una fuente importante para el trasplante, dada su naturaleza neural; estas células realizan funciones vitales relacionadas con la supervivencia y mantenimiento de las neuronas, poseen un eficiente sistema secretor y tienen un largo periodo de vida. Además expresan TH y sintetizan dopamina a partir de L-dopa y la liberan al medio, los astrocitos son más resistentes al estrés oxidativo que las neuronas; propiedad importante, porque en la síntesis y metabolismo de la dopamina se producen ERO.⁶⁴

La EP es un desorden neurodegenerativo causado por el deterioro progresivo de las neuronas dopaminérgicas de la sustancia negra y una grave disminución del contenido de dopamina en el estriado; por ello, la aplicación de la TG, tanto *ex vivo* como *in vivo*, se divide en dos estrategias: una dirigida al reemplazo de la dopamina en el estriado, que incluye la introducción de genes que codifican las enzimas que participan en la síntesis de este neurotransmisor, y la otra que se basa en métodos neuroprotectores o restauradores, por medio de la liberación de genes que codifican factores neurotróficos que previenen la muerte celular en el sistema nigroestriatal.⁶⁵

DISCUSIÓN

Hasta ahora ninguna forma de tratamiento ha demostrado capacidad para regenerar fisiológicamente el sistema dopaminérgico nigroestriatal en la EP humana. El trasplante de mesencéfalo fetal puede restaurar parcialmente el déficit de dopamina estriatal. En la actualidad, los trasplantes de médula adrenal se han abandonado por su elevada morbimortalidad. Los xenotrasplantes fetales o el trasplante de células retinianas también son poco alentadores. Sin embargo, a partir de las células madre se pueden obtener gran cantidad de

células dopaminérgicas, pero se requiere controlar los mecanismos de expansión y de diferenciación a células dopaminérgicas. Recientemente se han introducido al mercado células madre y factores tróficos procedentes de Suiza y Alemania con resultados alentadores.

Desde 1963 en que se estableció que la administración de L-dopa mejoraba la aquinesia, ha sido el tratamiento de elección. En la década de los 80, se iniciaron los trasplantes de células fetales mesencefálicas, los cuales mostraron su efectividad terapéutica, también se demostró que las neuronas sobreviven en el cerebro después del trasplante y que el número de neuronas viables es un factor determinante de la mejora clínica. Se sabe que el tejido trasplantado restituye la descarga regulada de dopamina en el estriado y que las neuronas fetales dopaminérgicas se integran funcionalmente en los circuitos neuronales lesionados. El resultado global es una mejoría en la activación de las áreas corticales frontales responsables de la aquinesia del Parkinson. Un dato que muestra la buena supervivencia del implante y la reinervación del estriado denervado se refleja en el incremento de la captación *in situ* de ^{18}F con 6- ^{18}F -1-dopa mediante tomografía de emisión de positrones. El crecimiento axonal es estimado por el alargamiento de 2-3 mm en el lugar del implante.⁶⁶ Con estos resultados, los estudios en pacientes se iniciaron en 1997 con el implante intra-estriatal de células fetales humanas mesencefálicas ricas en neuronas dopaminérgicas post-mitóticas procedentes de fetos de aborto de 6-9 semanas de gestación. Con este método se han demostrado mejorías de 18% a 34% en la Unified Parkinson's Disease Rating Scale (UPDRS) o índice motor a los 12 meses del implante bilateral y en la actualidad se contabilizan ensayos clínicos en más de 350 pacientes.⁶⁷ Los ensayos clínicos con trasplantes intra-estriatales de neuronas ofrecen mejoría en el tratamiento de la enfermedad de Parkinson, aunque no son igualmente efectivos en todos los pacientes. La generación de neuroblastos dopaminérgicos a partir de células madres embrionarias con mejor accesibilidad, abre un campo de estudio de gran interés y con gran potencial.⁶⁶

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue apoyado por el Sistema Nacional de Investigadores del CONACyT (Apoyo No. 33834), Sección de Estudios de Posgrado e Investigación de la Escuela Superior de Medicina del Instituto Politécnico Nacional, por la Fundación Gonzalo Río Arronte IAP y el Laboratorio de Histología de la Escuela Médico Militar, Universidad del Ejército y Fuerza Aérea.

REFERENCIAS

1. Sánchez-González DJ, Villanueva-López GC, Sosa-Luna CA, Orjuela-Henry DJ, Ortega-Rangel JA, Martínez-Martínez CM, Herrera-González NE. Óxido nítrico en el sistema nervioso central. Neuronas nitrérgicas. *Neurol Neurocir Psiquiat* 2004; 37: 73-8.
2. Taylor CA, Saint-Hilaire MH, Cupples LA, Thomas CA, Burchard AE, Feldman RG, Myers RH. Environmental, medical, and family history risk factors for Parkinson's disease: a New England-based case control study. *Am J Med Gen* 1999; 88: 742-9.
3. Minguéz-Castellanos A, Escamilla-Sevilla F. Cell therapy and other neuroregenerative strategies in Parkinson's disease (I). *Rev Neurol* 2005; 41: 604-14.
4. Orozco-Ibarra M, Medina-Campos ON, Sanchez-Gonzalez DJ, Martínez-Martínez CM, Floriano-Sanchez E, Santamaria A, Ramirez V, Bobadilla NA, Pedraza-Chaverri J. Evaluation of oxidative stress in d-serine induced nephrotoxicity. *Toxicology* 2007; 229: 123-35.
5. Shahi GS, Mochhala SM. Smoking and Parkinson's disease – a new perspective. *Rev Environ Health* 1991; 9: 123-36.
6. Checkoway H, Nelson LM. Epidemiologic approaches to the study of Parkinson's disease etiology. *Epidemiology* 1999; 10: 327-36.
7. Zhang ZX, Roman GC. Worldwide occurrence of Parkinson's disease: An updated review. *Neuroepidemiology* 1993; 12: 195-208.
8. Sveinbjornsdottir S, Hicks AA, Jonsson T, Petursson H, Guggmundsson G, Frigge ML, et al. Familial aggregation of Parkinson's disease in Iceland. *N Engl J Med* 2000; 343: 1765-70.
9. Calne DB, Langston JW. Aetiology of Parkinson's disease. *Lancet* 1983; 2: 457-9.
10. Li SC, Schoenberg BS, Wang CC, Cheng XM, Rui DY, Bolis CL, et al. A prevalence survey of Parkinson's disease and other movement disorders in the People's Republic of China. *Arch Neurol* 1985; 42: 655-7.
11. Preux PM, Condet A, Druet-Cabanac M, Debrock C, Macharia W, Couratier P, et al. Parkinson's disease and environmental factors. *Neuroepidemiology* 2000; 19: 333-7.
12. Langston JW, Ballard PA Jr. Parkinson's disease in a chemist working with 1-methyl-4-phenyl-1,2,5,6-tetrahydropyridine. *N Engl J Med* 1983; 309: 310.
13. Soto-Otero R, Méndez-Álvarez E, Sánchez-Sellero I, Cruz-Landeira A, López-Rivadulla M, Lamas M. Reduction of rat brain levels of the endogenous dopaminergic proneurotoxins 1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline and 1,2,3,4-tetrahydro-beta-carboline by cigarette smoke. *Neurosci Lett* 2001; 298: 187-90.
14. Jenner P. Oxidative damage in neurodegenerative disease. *Lancet* 1994; 344: 796-8.
15. Logroscino G, Marder K, Cote L, Tang M-X, Shea S, Mayeux R. Dietary lipids and antioxidants in Parkinson's disease. A population-based, case-control study. *Ann Neurol* 1996; 39: 89-94.
16. Matsumine H, Saito M, Shimoda S, Tanaka H, Ishikawa A, Nakagawa-Hattori Y, et al. Localization of a gene for an autosomal recessive form of juvenile Parkinsonism to chromosome 6q25.2-27. *Am J Hum Genet* 1997; 60: 588-96.
17. Kitada T, Asakawa S, Hattori N, Matsumine H, Yamamura Y, Minoshima S, et al. Mutations in the parkin gene cause autosomal recessive juvenile parkinsonism. *Nature* 1998; 392: 605-8.
18. Periquet M, Latouche M, Lohmann E, Rawal N, De Michele G, Ricard S, et al. Parkin mutations are frequent in patients with isolated early-onset parkinsonism. *Brain* 2003; 126: 1-8.
19. Valente EM, Bentivoglio AR, Dixon PH, Ferraris A, Alongo T, Frontali M, et al. Localization of a novel locus for autosomal recessive early onset parkinsonism, PARK6, on human chromosome 1p35-p36. *Am J Hum Genet* 2001; 68: 895-900.
20. Van Duijn CM, Dekker MC, Bonifati V, Galjaard RJ, Houwink-Duistermaat JJ, Snijders PJLM, et al. Park7, a novel locus for autosomal recessive early-onset parkinsonism, on chromosome 1p36. *Am J Hum Genet* 2001; 69: 629-34.
21. Bonifati V, Rizzu P, Van Baren MJ, Schaap O, Breedveld GJ, Krieger E, et al. Mutations in the DJ-1 gene associated with autosomal recessive early-onset Parkinsonism. *Science* 2003; 299: 256-9.

22. Najim al-Din AS, Wriekat A, Mubaidin A, Dasouki M, Hiari M. Pallido-pyramidal degeneration, supranuclear upgaze paresis and dementia: Kufor-Rakeb syndrome. *Acta Neurol Scand* 1994; 89: 347-52.
23. Hampshire DJ, Roberts E, Crow Y, Bond J, Mubaidin A, Wriekat AL, et al. Kufor-Rakeb syndrome, pallido-pyramidal degeneration with supranuclear upgaze paresis and dementia, maps to 1p36. *J Med Genet* 2001; 38: 680-2.
24. Nakao N, Kakishita K, Uematsu Y, Yoshimasu T, Bessho T, Nakai K, et al. Enhancement of the response to levodopa therapy after intraestriatal transplantation of autologous sympathetic neurons in patients with Parkinson disease. *J Neurosurg* 2001; 95: 275-84.
25. Kim JH, Auerbach JM, Rodríguez-Gómez JA, Velasco I, Gavin D, Lumelsky N, et al. Dopamine neurons derived from embryonic stem cells function in an animal model of Parkinson's disease. *Nature* 2002; 418: 50-6.
26. Hideki H, Hashimoto M, Fujimoto I, Nakajima K, Shimano Y, Nagatsu T, et al. Dopa-producing astrocytes generated by adenoviral transduction of human tyrosine hydroxylase gene: in vitro study and transplantation to hemiparkinsonian model rats. *Neurosci Res* 1999; 35: 101-12.
27. Aguilera-Hernández P, Cháñez-Cárdenas ME, Floriano-Sánchez E, Barrera D, Santamaría A, Sánchez-González DJ, Pérez-Severiano F, Pedraza-Chaverrí J, Maldonado PD. Time-related changes in constitutive and inducible nitric oxide synthases in a model of Huntington's disease. *Neurotoxicology* 2007 (In Press).
28. Björklund A, Stenevi U. Reconstruction of the nigrostriatal dopamine pathway by intracerebral nigral transplants. *Brian Res* 1979; 177: 555-60.
29. Perlow MJ, Freed WJ, Hoffer BJ, Seiger Å, Olson L, Wyatt RJ. Brian grafts reduce motor abnormalities produced by destruction of nigrostriatal dopamine system. *Science* 1979; 204: 643-7.
30. Kordower HJ, Fiandaca MS, Notter MFD, Hansen JT, Gash DM. NKF-like trophic support from peripheral nerve for grafted rhesus adrenal chromaffin cells. *J Neurosurg* 1990; 73: 418-28.
31. Björklund A, Stenevi U, Dunnett SB, Iversen SD. Functional reactivation of the deafferented neostriatum by nigral transplants. *Nature* 1981; 289: 497-9.
32. Bohn MC, Cupit LC, Marciano F, Gash DM. Adrenal medullary grafts enhance recovery of striatal dopaminergic fibers. *Science* 1987; 237: 913-6.
33. 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.
34. Dunnett SB, Björklund A. Prospects for new restorative and neuroprotective treatments in Parkinson's disease. *Nature* 1999; 399: A32-A39.
35. Madrazo I, Drucker-Colin R, Diaz V, Martinez-Mata J, Torres C, Becerril J. Open microsurgical autograft of the adrenal magulla to the righth caudate nucleus in two patients with intractable Parkinson's disease. *N Engl J Med* 1987; 316: 831-4.
36. Jiao SS, Ding YJ, Zhang GF, Zhang ZM, et al. Adrenal medullary autografts in patients with Parkinson's disease. *N Engl J Med* 1989; 321:324-5.
37. Hagell P, Piccini P, Björklund A, Brundin P, Rehncrona S, Widner H, et al. Dyskinesias following neural transplantation in Parkinson's disease. *Nat Neurosci* 2002; 5: 627-8.
38. Minguez-Castellanos A, Escamilla-Sevilla F. Cell therapy and other neuroregenerative strategies in Parkinson's disease (II). *Rev Neurol* 2005; 41: 684-93.
39. Lindvall O, Brundin P, Widner H, Rehncrona S, Gustavii B, Frackowiak R, et al. Grafts of fetal dopamine neurons survives and improve motor function in Parkinson's disease. *Science* 1990; 247: 574-7.
40. Madrazo I, Franco-Bourland R, Ostrosky-Solis F, Aguilera M, Cuevas C, Zamorano C, et al. Fetal homotransplants (ventral mesencephalo and adrenal tissue) to the striatum of parkinsonian subject. *Arch Neurol* 1990; 47: 1281-5.
41. Widner H, Tetud J, Rehncrona S, Snow BJ, Brundin P, Gustavii B, et al. Bilateral fetal mesencephalic grafting in two patients with parkinsonism induced by MPTP. *N Engl J Med* 1992; 26: 1556-63.
42. Kordower JH, Freeman TB, Snow BJ, Vingerhoets FJG, Mufson EJ, Sanberg PR, et al. Neuropathological evidence of graft survival and striatal reinnervation after the transplantation of fetal mesencephalic tissue in a patient with Parkinson's disease. *N Engl J Med* 1995; 332: 1118-24.
43. Dunnet SB, Björklund A, Lindvall O. Cell therapy in Parkinson's disease: stop or go? *Nature Rev Neurosci* 2001; 2: 365-9.
44. Piccini P, Pavese N, Hagell P, Reimer J, Björklund A, Oertel WH, Quinn NP, Brooks DJ, Lindvall O. Factors affecting the clinical outcome after neural transplantation in Parkinson's disease. *Brain* 2005; 128: 2977-86.
45. Thompson L, Barraud P, Andersson E, Kirik D, Björklund A. Identification of dopaminergic neurons of nigral and ventral tegmental area subtypes in grafts of fetal ventral mesencephalon based on cell morphology, protein expression, and efferent projections. *J Neurosci* 2005; 25: 6467-77.
46. Pacheco-Ramírez MA, Rodríguez-Perales MA, López-Chavira A, Canul-Andrade LP, Martínez-Martínez CM, Sánchez-González DJ. Expresión de las sintasas de óxido nítrico en tumores glómicos de cabeza y cuello. *Rev Sanid Milit Mex* 2006; 60(6): 369-78.
47. Sánchez-González DJ, Trejo-Bahena NI. *Prácticas de Histología*. México: Editorial Alfil; 2006.
48. Itakura T, Uematsu Y, Nakao N, Nakai E, Nakai K. Transplantation of autologous sympathetic ganglion into the brain with Parkinson's disease: long-term follow-up of 35 cases. *Stereotact Funct Neurosurg* 1997; 69: 112-5.
49. Espejo EF, González-Albo MC, Moraes JP, El Banoua F, Flores JA, Caraballo I. Functional regeneration in a rat Parkinson's model alter intraestriatal grafts of GDNF and TGF-β1-expressing extra-adrenal chromaffin cells of the Zuckerkandl's organ. *J Neurosci* 2001; 21: 9888-95.
50. Segovia J, Vergara P, Brenner M. Astrocyte-specific expression of tyrosine hydroxylase after intracerebral gene transfer induces behavioural recovery in experimental parkinsonism. *Gene Ther* 1998; 5: 1650-5.
51. Björklund LM, Sánchez-Pernaute R, Chung S, Andersson T, Chen IY, McNaught KSP, et al. Embryonic stem cells develop into functional dopaminergic neurons after transplantation in a Parkinson rat model. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99: 2344-9.
52. Wakayama T, Tabar V, Rodríguez I, Perry AC, Studer L, Mombaerts P. Differentiation of embryonic stem cell lines generated from adult somatic cells by nuclear transfer. *Science* 2001; 292: 740-3.
53. Storch A, Paul G, Csete M, Boehm BO, Carvey PM, Kupsh A, et al. Long-term proliferation and dopaminergic differentiation of human mesencephalic neural precursor cells. *Exp Neurol* 2001; 170: 317-25.
54. Jiang Y, Jahagirdar BN, Reinhardt RL, Schwartz RE, Keene CD, Ortiz-González XR, et al. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. *Nature* 2002; 418: 41-9.
55. Maslov AY, Barone TA, Plunkett RJ, Pruitt SC. Neural stem cell detection, characterization, and age-related changes in the subventricular zone of mice. *J Neurosci* 2004; 24: 1726-33.
56. Watts RL, Raiser CD, Stover NP, Cornfeldt ML, Schweikert AW, Allen RC, et al. Stereotaxic intraestriatal implantation of human retinal pigment epithelial cells attached to gelatine microcarriers: a potential new cell therapy for Parkinson's disease. *J Neural Transm Suppl* 2003; 65: 215-27.
57. 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.
58. Freed WJ, Morigisa 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.
59. Shen Y, Muramatsu SI, Ikeguchi K, Fujimoto KI, Fan DS, Ogawa M, et al. Triple transduction with adeno-associated virus vectors expressing tyrosine hydroxylase, aromatic-L-amino-acid decarboxylase, and GTP cyclohydrolase I for gene therapy of Parkinson's disease. *Hum Gene Ther* 2000; 11: 1509-19.
60. Left SE, Rendahl KG, Spratt SK, Kang UJ, Mandel RJ. In vivo LDOPA production by genetically modified primary rat fibroblast or gliosarcoma cell grafts via coexpression of GTP cyclohydrolase I with tyrosine hydroxylase. *Exp Neurol* 1998; 151: 249-64.

61. Bankiewicz KS, Eberling JL, Kohutnicka M, Jagust W, Pivrotto P, Bringas J, et al. Convection-enhanced delivery of AAV vector in parkinsonian monkeys; in vivo detection of gene expression and restoration of dopaminergic function using pro-drug approach. *Exp Neurol* 2000; 164: 2-14.
62. Mochizuki H, Mizuno Y. Gene therapy for Parkinson's disease. *J Neural Transm Suppl* 2003; 65: 205-13.
63. Luo J, Kaplitt MG, Fitzsimons HL, Zuzga DS, Liu Y, Oshinsky ML, et al. Subthalamic GAD gene therapy in a Parkinson's disease rat model. *Science* 2002; 298: 425-9.
64. Cortez N, Trejo F, Vergara P, Segovia J. Primary astrocytes retrovirally transduced with a tyrosine hydroxylase transgene driven by a glial-specific promoter elicit behavioural recovery in experimental parkinsonism. *J Neurosci Res* 2000; 59: 39-46.
65. National Institute of Health. Stem cells: scientific progress and future research directions. Rebuilding the nervous system with stem cells. National Institute of Health 2001; 77-85.
66. Lindvall O, Bjorklund A. Cell therapy in Parkinson's disease. *NeuroRx* 2004; 1: 382-93.
67. Kirik D, Bjorklund A. Histological analysis of fetal dopamine cell suspension grafts in two patients with Parkinson's disease gives promising results. *Brain* 2005; 128: 1478-9.

Recibido: Mayo 8, 2007.
Aceptado: Junio 27, 2007.