

Búsqueda de una terapia neuroprotectora para la enfermedad de Parkinson

José López-Barneo.

Instituto de Biomedicina de Sevilla (IBiS).
Hospital Universitario Virgen del Rocío/CSIC/Universidad de Sevilla.
Centro de Investigación Biomédica en Red Sobre Enfermedades Neurodegenerativas (CIBERNED).

Este artículo, que escribo para AFT por invitación de Antonio García, amigo y admirado compañero en el estudio del “trasiego” de iones a través de las membranas celulares, resume en un tono informal y espero que ameno, los esfuerzos realizados en mi laboratorio durante los últimos 25 años dirigidos al desarrollo de una terapia neuroprotectora para la enfermedad de Parkinson (EP). Visto retrospectivamente, creo que este trabajo es un buen ejemplo de interacción entre la investigación biomédica básica y la clínica; lo que hoy se define y promociona como “investigación traslacional”. Muestra además como la actividad científica no siempre es fruto de un proceso racional y planificado, sino que también depende del azar y de circunstancias imprevistas.

A mediados de la década de 1980 formé un grupo de investigación en la Universidad de Sevilla cuyo objetivo científico era el estudio de la función de los canales iónicos en células neuroendocrinas utilizando la recién descubierta técnica de “patch clamp”. Uno de estos estudios, iniciado en colaboración con el grupo dirigido por Constancio González en la Universidad de Valladolid, consistió en la caracterización electrofisiológica de las células quimiosensoras (llamadas células glómicas) del cuerpo carotídeo. Éste es un pequeño órgano bilateral del sistema nervioso periférico, que está conectado con el centro respiratorio y que se activa cuando bajan los niveles de oxígeno en la sangre arterial para producir una hiperventilación compensatoria. Tras casi una década de trabajo, describimos el mecanismo

de activación de las células glómicas por la hipoxia, un fenómeno esencial en la regulación de la respiración desconocido hasta entonces. Lo más relevante de este proyecto para la presente historia fue que demostramos una acumulación de niveles particularmente altos de dopamina en las células glómicas aisladas. La dopamina liberada por estas células en respuesta a la hipoxia tiene un efecto auto-inhibitorio, actuando a modo de freno para evitar la activación excesiva de las neuronas inspiratorias.

Una tarde de mediados de 1997 recibí, sin aviso previo, la visita de Juan Negrín, hijo del expresidente de la II República Española durante la Guerra Civil de 1936-1939. El Dr. Negrín, cercano a la jubilación, trabajaba como neurocirujano en Nueva York y de camino a la Costa

Azul, adonde iba de vacaciones, pasó por Sevilla para conocerme. Como otros neurocirujanos de la época, el Dr. Negrín había realizado extirpaciones del cuerpo carotídeo para disminuir la sensación intensa de disnea en pacientes con asma bronquial o enfermedad pulmonar obstructiva crónica. Conocía nuestras publicaciones sobre el cuerpo carotídeo y deseaba saber de primera mano mi opinión sobre la función de la dopamina en este órgano. La conversación derivó hacia la EP, cuyos síntomas motores se deben a la pérdida de neuronas dopaminérgicas en la vía nigroestriatal. Por ello, y dado que la extirpación unilateral del cuerpo carotídeo en el hombre no tiene efectos secundarios, comentamos la posibilidad de realizar autotrasplantes intracerebrales de cuerpo carotídeo para restituir la falta de dopamina de los enfermos parkinsonianos. Aunque varios grupos habían realizado trasplantes de neuronas dopaminérgicas fetales en pacientes de EP con resultados positivos, el tejido fetal es escaso y su uso no solo tenía limitaciones éticas, sino que requería medicación inmunosupresora. Pasadas unas semanas de esta conversación, aparentemente sin importancia, decidí iniciar uno de los proyectos de investigación más atractivos, pero a la vez más complejos, de mi carrera profesional.

Nuestro primer objetivo fue llevar a cabo un estudio preclínico exploratorio que consistió en el trasplante de cuerpo carotídeo de ratas normales en ratas parkinsonianas isogénicas. Este trabajo se completó en unos pocos meses con muy buenos resultados y se publicó en 1998 en *Neuron* (Espejo y cols. 1998), una de las mejores revistas del área de Neurociencias. El artículo recibió comentarios elogiosos en revistas como *Science* o *Nature News* y en prensa general (¡ocupó más de media página del *New York Times*!). De este modo, y sin habérmelo propuesto, de la noche a la mañana me convertí, junto a mis colaboradores, en “expertos” en un área en la que nunca había pensado investigar. Este trabajo se completó con una “prueba de concepto” de autotrasplantes en monos parkinsonianos que hicimos en colaboración con Rosario Luquin de la Universidad de Navarra,

donde había uno de los pocos laboratorios españoles que hacía experimentación en primates. Los resultados, también muy alentadores, aparecieron de nuevo en *Neuron* (Luquin, Montoro y cols., 1999) y tuvieron un alto impacto científico (la foto de uno de nuestros monos fue la portada de la revista) y mediático.

Debido a los buenos resultados de los trabajos en modelos animales, nos pareció conveniente hacer un estudio piloto en pacientes, aunque no disponíamos de los medios (económicos e infraestructura clínica) necesarios para llevar a cabo el proyecto. El azar fue de nuevo nuestro aliado ya que recibimos una ayuda de la Fundación Juan March, convocada por primera vez ese año, para potenciar a grupos españoles que pudieran ser competitivos internacionalmente. Esta ayuda financió gran parte del estudio, que incluía pruebas de imagen en los pacientes antes y después del trasplante realizadas en el Hospital Hammersmith de Londres. A la neurocirugía llegué fortuitamente gracias a una reunión sobre el estado de la investigación biomédica en Andalucía en la que me senté junto a una persona a quien no conocía y con la que mantuve una conversación sobre nuestros trabajos respectivos. Esta persona, a quien le entusiasmó el proyecto de investigación sobre la EP, resultó ser Ventura Arjona, neurocirujano del Hospital Virgen de las Nieves de Granada con una amplia experiencia en las técnicas estereotáxicas necesarias para hacer los implantes celulares intracerebrales. En poco tiempo conseguimos completar dos estudios piloto, con seis pacientes en cada uno, que, aunque dieron resultados moderadamente optimistas, modificaron el curso de la investigación (Arjona y cols. *Journal of Neurosurgery*, 2003; Mínguez-Castellanos y cols., *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, 2007). Nuestros datos sugerían que los efectos beneficiosos de los trasplantes no se debían principalmente a la secreción de dopamina por las células implantadas (cuyo número, sobre todo en el caso de los pacientes, era muy pequeño) sino a que estas células liberaban algún factor neurotrófico de gran potencia. Dicho factor

no solo retardaba la muerte de las neuronas nigroestriatales dañadas (y de este modo frenaba el curso de la enfermedad) sino que inducía recuperación y reinervación estriatal. Esta hipótesis se confirmó al observar que las células quimiosensoras del cuerpo carotídeo (tanto en roedores como en humanos) expresan grandes cantidades de GDNF, uno de los factores tróficos dopaminérgicos más potentes que se conocen (Toledo-Aral, Méndez-Ferrer y cols. *Journal of Neuroscience*, 2003; Villadiego y cols. *Journal of Neuroscience*, 2005; Ortega-Sáenz y cols., *Journal of Physiology*, 2013).

Durante los años posteriores, y gracias a ayudas sucesivas de la Fundación Botín, iniciamos un ambicioso proyecto de expansión *in vitro* del cuerpo carotídeo para incrementar el número de células productoras de dopamina y GDNF usables en los implantes intracerebrales. Este proyecto funcionó muy bien en ratas y de él han derivado avances importantes en la fisiología del cuerpo carotídeo, entre otros el descubrimiento de uno de los pocos nichos de células madre neurales del adulto (Pardal y cols., *Cell*, 2007). Desafortunadamente, estos resultados no pudieron trasladarse de forma inmediata a los pacientes porque, por razones todavía desconocidas, la expansión del cuerpo carotídeo humano *in vitro* es muy limitada. Impresionados por el potente efecto del GDNF administrado exógenamente (producido por las células implantadas) sobre las neuronas dopaminérgicas, iniciamos en paralelo al proyecto de terapia celular una investigación cuyo objetivo era mostrar si el GDNF se produce en el cerebro adulto (endógenamente) y si ejerce fisiológicamente un efecto protector sobre las neuronas dopaminérgicas. Para responder a estas preguntas generamos un ratón “knockout” condicional de GDNF, en el que se puede inactivar el gen que codifica el GDNF una vez que el animal alcanza la edad adulta. El estudio mostró que la ausencia de GDNF produce alteraciones neuronales y motoras graves, lo que puso de manifiesto su acción neuroprotectora (Pascual y cols., *Nature Neuroscience*, 2008). Además, observamos que el estriado (lugar de proyección de las neuronas dopaminérgicas) es uno de los pocos sitios donde se produce GDNF en el cerebro adulto e identificamos un tipo neural específico

(las interneuronas parvalbúmina positivas, PV+) como la mayor fuente de GDNF endógeno (Hidalgo-Figueroa y cols. *Journal of Neuroscience*, 2012). Estos resultados fueron el preámbulo de la investigación que desarrollamos actualmente, cuyo objetivo es la estimulación farmacológica de la producción de GDNF endógeno como terapia antiparkinsoniana. Este proyecto, co-dirigido con Xavier d’Anglemont de Tassigny, ha dado lugar a la descripción de vías de señalización específicas en las neuronas PV+ que regulan de forma muy precisa la producción de GDNF (Enterría y cols. *Brain Communications*, 2020). Actualmente estamos ensayando varios fármacos “pro-GDNF” que modulan las vías ya descritas para determinar su potencial aplicabilidad clínica. La terapia celular en la EP, que se desarrolló en varios países en las últimas décadas, se encuentra en estado de reconsideración. No obstante, hay que destacar que de estas investigaciones pioneras surgieron algunos de los conceptos y metodologías de uso clínico actual.

Nuestro proyecto comenzó en un laboratorio de electrofisiología que tras las experiencias comentadas en este artículo (y otras no relacionadas con la presente historia) ha sufrido una transformación profunda. Las evidencias experimentales y la realidad clínica han sido en cada momento las que han determinado la orientación y los abordajes de la investigación y nos han obligado a evolucionar. Creo que esta es la esencia de la investigación médica traslacional: la interacción entre la experimentación con células y moléculas en el laboratorio y la enfermedad que sufren los pacientes. Todo ello sujeto a las influencias del azar y las circunstancias, compañeros inseparables de la investigación.