

UNIVERSIDAD DE GRANADA
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE MEDICINA



MEMORIA DE TESIS DOCTORAL:
***TRASPLANTE DE AGREGADOS CELULARES
DEL CUERPO CAROTÍDEO EN PACIENTES
CON ENFERMEDAD DE PARKINSON***

ADOLFO MÍNGUEZ CASTELLANOS

Granada, enero de 2005

Editor: Editorial de la Universidad de Granada
Autor: Adolfo Mínguez Castellanos
D.L.: Gr. 181 - 2005
ISBN: 84-338-3276-x

Dedicatoria

*A Eva, Alicia y Héctor,
por su cariño y constante apoyo.*



CERTIFICACIONES

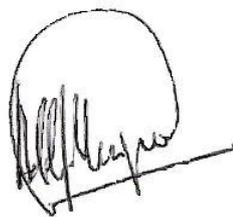
D. ADOLFO MÍNGUEZ CASTELLANOS, Licenciado en Medicina y Cirugía, y Médico Especialista en Neurología, EXPONE:

Que he cursado los estudios universitarios de tercer ciclo en la Universidad de Granada siendo tutor el Profesor D. Rafael González Maldonado, del Departamento de Medicina.

Después de completar los Cursos de Doctorado y obtener la Suficiencia Investigadora el 7 de marzo de 1996 (según el RD 185/1985), se solicitó la adaptación al plan actual (regulado por el RD 778/1998) con fecha 30 de septiembre de 2003, según acuerdo del Consejo de Gobierno de la Universidad de Granada de 7 de julio de 2003. El proyecto de la presente Tesis Doctoral fue aprobado por el Consejo del Departamento de Medicina en su sesión del 23 de octubre de 2003 y presentado en el Registro General de la Universidad de Granada con fecha 7 de noviembre de 2003.

Una vez finalizado el trabajo de investigación y, de acuerdo con las Normas Reguladoras de los Estudios de Tercer Ciclo de la Universidad de Granada, presento esta Memoria de Tesis Doctoral titulada “TRASPLANTE DE AGREGADOS CELULARES DEL CUERPO CAROTÍDEO EN PACIENTES CON ENFERMEDAD DE PARKINSON”, para optar al título de Doctor por la Universidad de Granada.

Y para que conste, en cumplimiento de las disposiciones vigentes, firmo esta Memoria de Tesis Doctoral, en Granada a 3 de enero de 2005.

A handwritten signature in black ink, consisting of a large, stylized initial 'A' followed by several vertical strokes and a horizontal line at the bottom.

Fdo.: D. Adolfo Mínguez Castellanos

D. RAFAEL GONZÁLEZ MALDONADO, PROFESOR DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD DE GRANADA Y JEFE DE SERVICIO DE NEUROLOGÍA DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO “SAN CECILIO” DE GRANADA,

CERTIFICA QUE:

D. ADOLFO MÍNGUEZ CASTELLANOS, ha completado los estudios de tercer ciclo en la Universidad de Granada bajo mi tutela, y he dirigido, junto con los profesores D. José López Barneo y D. José María Martín Linares, la Tesis Doctoral titulada “TRASPLANTE DE AGREGADOS CELULARES DEL CUERPO CAROTÍDEO EN PACIENTES CON ENFERMEDAD DE PARKINSON”.

Una vez finalizado el trabajo de investigación, AUTORIZO la presentación de esta Memoria de Tesis Doctoral, a fin de que pueda optar al título de Doctor por la Universidad de Granada.

Y para que conste, en cumplimiento de las disposiciones vigentes, firmo la presente en Granada a 3 de enero de 2005.



Fdo.: Prof. D. Rafael González Maldonado

D. JOSÉ LÓPEZ BARNEO, CATEDRÁTICO DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD DE SEVILLA Y JEFE DE SERVICIO / COORDINADOR GENERAL DE INVESTIGACIÓN DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO “VIRGEN DEL ROCÍO” DE SEVILLA,

CERTIFICA QUE:

D. ADOLFO MÍNGUEZ CASTELLANOS, ha elaborado la Tesis Doctoral titulada “TRASPLANTE DE AGREGADOS CELULARES DEL CUERPO CAROTÍDEO EN PACIENTES CON ENFERMEDAD DE PARKINSON”, de la que he sido director, conjuntamente con los profesores D. Rafael González Maldonado y D. José María Martín Linares.

Una vez finalizado el trabajo de investigación, AUTORIZO la presentación de esta Memoria de Tesis Doctoral, a fin de que pueda optar al título de Doctor por la Universidad de Granada.

Y para que conste, en cumplimiento de las disposiciones vigentes, firmo la presente en Granada a 3 de enero de 2005.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'J. López Barneo', written over a horizontal line.

Fdo.: Prof. D. José López Barneo

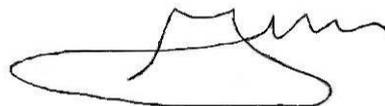
D. JOSÉ MARÍA MARTÍN LINARES, PROFESOR DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD DE GRANADA Y JEFE DE SECCIÓN DE NEUROCIRUGÍA DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO “VIRGEN DE LAS NIEVES” DE GRANADA,

CERTIFICA QUE:

D. ADOLFO MÍNGUEZ CASTELLANOS, ha elaborado la Tesis Doctoral titulada “TRASPLANTE DE AGREGADOS CELULARES DEL CUERPO CAROTÍDEO EN PACIENTES CON ENFERMEDAD DE PARKINSON”, de la que he sido director conjuntamente con los profesores D. Rafael González Maldonado y D. José López Barneo.

Una vez finalizado el trabajo de investigación, AUTORIZO la presentación de esta Memoria de Tesis Doctoral, a fin de que pueda optar al título de Doctor por la Universidad de Granada.

Y para que conste, en cumplimiento de las disposiciones vigentes, firmo la presente en Granada a 3 de enero de 2005.



Fdo.: Prof. D. José María Martín Linares

CERTIFICADO DEL COMITÉ ÉTICO



Servicio Andaluz de Salud
Hospital Universitario
"VIRGEN DE LAS NIEVES"
GRANADA

DIRECCION DE INVESTIGACION
Y DOCENCIA

D. JOSE SANCHEZ MORCILLO, Secretario del Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Universitario Virgen de las Nieves de Granada,

CERTIFICA que D. Adolfo MINGUEZ CASTELLANOS, investigador principal del proyecto presentado al S.A.S. con el título "Trasplante de agregados celulares del cuerpo carotídeo en pacientes con enfermedad de parkinson", ha entregado copia de este proyecto a este Comité, el cual, observa que se respetan las garantías éticas de acuerdo con la declaración de Helsinki.

Se otorga el visto bueno y tutela para su realización en este Hospital.

Granada, 21 de diciembre de 2000





AGRADECIMIENTOS

La presente Tesis Doctoral es fruto del trabajo en equipo entre investigadores básicos y clínicos pertenecientes a dos Centros andaluces integrados en la Red CIEN (Centro de Investigación en Enfermedades Neurológicas): el Hospital Universitario Virgen del Rocío de Sevilla (HUVR) y el Hospital Universitario Virgen de las Nieves de Granada (HUVN). Además, han colaborado profesionales de otros Centros, principalmente de la Facultad de Psicología de la Universidad de Granada y del Hospital *Hammersmith* de Londres. Sin duda, este trabajo de investigación no habría sido posible sin la decidida contribución de cada una de estas personas e Instituciones. A todos ellos agradezco su dedicación y apoyo:

- Al profesor Dr. José López Barneo, jefe de Servicio de Investigación del HUVR, auténtico inspirador y director de este trabajo. Gracias a su empuje ha sido posible acercar la investigación básica a la clínica, habiendo conseguido transmitir a la vez su rigor y entusiasmo científico.
- Al Dr. Ventura Arjona, jefe de Servicio de Neurocirugía del HUVN, como responsable del estudio clínico y de las intervenciones quirúrgicas. Trabajar junto a una persona de su nivel humano y profesional es, sin duda, una gran oportunidad y un constante estímulo. Debo agradecerle su confianza para constituir la Unidad Multidisciplinar para el Tratamiento Quirúrgico de los Trastornos del Movimiento.
- A la Dra. Teresa García y al Dr. Ángel Ortega, sucesivos responsables del Servicio de Neurología del HUVN, que apoyaron desde el principio este proyecto. Ellos han sido, junto al resto de compañeros del Servicio, una parte muy importante de mi vida en los últimos quince años.
- El Dr. Ángel Ortega, jefe de Servicio de Neurología del HUVN, ha participado directamente en el estudio mediante la realización de las evaluaciones clínicas “cegadas”. Él ha guiado mi trayectoria profesional desde el inicio y es para mí un ejemplo a seguir en muchos aspectos. Sin duda, es el principal responsable de mi interés por la enfermedad de Parkinson.

-
- Al Dr. Francisco Escamilla, miembro del Servicio de Neurología del HUVN, por la colaboración en la selección y seguimiento clínico de los pacientes, así como por su asistencia durante la realización de los estudios PET en Londres. Su capacidad de trabajo, y para generar nuevas ideas, suponen un estímulo en nuestra actividad cotidiana.

 - A los Dres. Rafael González Maldonado y José María Martín Linares, co-directores de esta tesis, por su apoyo y valiosos consejos.

 - Además, el Dr. José María Martín Linares, Jefe de Sección de Neurocirugía del HUVN, ha colaborado en las intervenciones quirúrgicas y en el seguimiento postoperatorio de los pacientes. También han participado otros miembros del Servicio de Neurocirugía: el Dr. Majed Katati ha colaborado en las intervenciones quirúrgicas; y el Dr. Mario Castañeda ha asistido a los pacientes durante la realización de los estudios PET en Londres.

 - A los miembros del equipo del profesor José López Barneo en el Laboratorio de Investigaciones Biomédicas del HUVR, especialmente a Rafael Montoro, Juan José Toledo Aral, Ricardo Pardal y Simón Méndez Ferrer, que han desarrollado la investigación básica en modelos animales, y han sido responsables del procesamiento del cuerpo carotídeo y de su ulterior análisis. Agradezco especialmente al profesor Juan José Toledo Aral la aportación de material iconográfico y sus valiosos comentarios críticos. También han colaborado otros profesionales del HUVR: el Dr. Isidoro Chinchón, del Servicio de Anatomía Patológica, ha realizado el estudio de los marcadores histológicos de la enfermedad de Parkinson; y el Dr. Pablo Mir, del Servicio de Neurología, ha asistido a los pacientes durante la realización de los estudios PET en Londres.

 - A los profesores Miguel Pérez y Miguel Meersmans, de la facultad de Psicología de la Universidad de Granada, como responsables del diseño y realización del estudio neuropsicológico. Miguel Meersmans, adscrito también al Servicio de Neurología

del HUVN, ha colaborado en la atención a los pacientes durante sus viajes a Londres.

- A los Dres. David J. Brooks y Gary R. Hotton, del Hospital *Hammersmith* de Londres, por la realización de los estudios mediante PET con ^{18}F -dopa.
- Al Dr. Manuel Gómez Río, del Servicio de Medicina Nuclear del HUVN por la realización e interpretación de los estudios mediante SPECT con ioflupano.
- Además de los investigadores mencionados, que han participado de una forma más directa en este trabajo, deseo agradecer la colaboración asistencial de otros muchos profesionales del HUVN pertenecientes a los Servicios de Neurología, Neurocirugía, Anestesia, Neurorradiología, Cirugía Maxilo-facial, Física Médica y Medicina Nuclear. Asimismo, el personal administrativo del Servicio de Neurología del HUVN y del Laboratorio de Investigaciones Biomédicas del HUVR ha desempeñado un papel esencial para el correcto desarrollo del estudio. Como tantas otras veces, las bibliotecarias del Centro de Rehabilitación y Traumatología del HUVN me han ayudado en la búsqueda y obtención del material bibliográfico.

Además de la colaboración de todas estas personas e Instituciones, este estudio clínico no habría sido posible sin la financiación de los siguientes Organismos:

- La Consejería de Salud de la Junta de Andalucía ha contribuido mediante distintas ayudas, principalmente de la Fundación “Progreso y Salud” y del Servicio Andaluz de Salud (expediente 100/2000).
- La Red de Investigación CIEN (C03/06), mediante las aportaciones anuales a los nodos HUVR y HUVN.

- La Fundación Juan March concedió al Dr. José López Barneo la “Ayuda a la Investigación 2000”, con la que se ha financiado la realización de los estudios PET en Londres.
- La Fundación Virgen de las Nieves otorgó una beca a Miguel Meersmans para colaborar en la Unidad de Tratamiento Quirúrgico de los Trastornos del Movimiento del HUVN.
- El *Medical Research Council* británico ha financiado la asistencia prestada a los pacientes en la *MRC Cyclotron Unit* del Hospital *Hammersmith* de Londres.

Por último, deseo agradecer a los pacientes de Parkinson todo aquello que nos enseñan día a día, no solo aspectos de su enfermedad, sino también sus valores y afán de superación. Como médicos e investigadores, a ellos nos debemos.

Adolfo Mínguez Castellanos

Enero de 2005.-



ABREVIATURAS

A

aC: Antes de Cristo.

AD: Autosómico dominante.

ADN: Ácido desoxirribonucleico.

ANOVA: Análisis de la varianza.

AR: Autosómico recesivo.

ARNm: Ácido ribonucleico mensajero.

ATP: Adenosin trifosfato.

B

BDNF: Factor neurotrófico derivado del cerebro (del inglés: *brain-derived neurotrophic factor*).

C

CAPIT: Programa de evaluación esencial para trasplantes intracerebrales (del inglés: *core assessment program for intracerebral transplantations*).

CAPSIT-PD: Programa de evaluación esencial para los tratamientos quirúrgicos de la enfermedad de Parkinson (del inglés: *core assessment program for surgical interventional therapies in Parkinson disease*).

CC: Cuerpo carotídeo.

COMT: Catecol-O-metil-transferasa.

D

DAT: Transportador de dopamina (del inglés: *dopamine transporter*).

DDC: Dopa decarboxilasa

DE: Desviación estándar.

DOPA: 3,4-dihidroxifenilalanina.

E

ECP: Estimulación cerebral profunda.

EP: Enfermedad de Parkinson.

F

¹⁸F-DOPA: 18-fluoro-dopa (3,4-dihidroxifenilalanina).

G

GABA: Ácido γ - amino butírico (del inglés: *γ - aminobutyric acid*).

GAD: Decarboxilasa del ácido glutámico (del inglés: *glutamic acid decarboxylase*).

GDNF: Factor neurotrófico derivado de la glía (del inglés: *glial cell line-derived neurotrophic factor*).

Gpi: Globo pálido interno.

GTP: Guanidil trifosfato.

H

HTA: Hipertensión arterial.

K

Ki: Constante de captación de ¹⁸F-dopa (del inglés: *influx constant*).

L

L (levo)-DOPA: forma levo de la dopa (3,4-dihidroxifenilalanina).

M

MAO-B: Mono-amino oxidasa B.

MBq: Megabecquerelio (unidad de medida de la radioactividad, correspondiente a 10⁶ desintegraciones por segundo).

MPP+: 1-metil, 4-fenilpiridinium.

MPTP: 1-metil, 4-fenil, 1,2,3,6-tetrahidropiridina.

N

NGF: Factor de crecimiento nervioso (del inglés: *nerve growth factor*).

NMDA: N-metil-D-aspartato.

NST: Núcleo subtalámico.

O

OHDA: Hidroxi-dopamina.

P

PET: Tomografía por emisión de positrones (del inglés: *positron emission tomography*).

R

RM: Resonancia magnética.

S

SPECT: Tomografía computarizada por emisión de fotón simple (del inglés: *single photon emission computed tomography*).

SPM: Mapeo paramétrico estadístico (del inglés: *statistical parametric mapping*).

T

TAC: Tomografía axial computarizada.

TGF- β_1 : Factor de crecimiento transformante- β_1 (del inglés: *transforming growth factor- β_1*).

TH: Tiroxina hidroxilasa.

U

UCH-L1: Ubiquitina carboxi-terminal L1-hidrolasa.

UPDRS: Escala unificada para la enfermedad de Parkinson (del inglés: *unified Parkinson's disease rating scale*). Las subescalas I, II, III y IV evalúan respectivamente el estado mental, las actividades cotidianas, la exploración motora y las complicaciones.

V

Vim: Núcleo ventral intermedio talámico.



ÍNDICE

| | |
|---|----|
| I.- INTRODUCCIÓN | 1 |
| II.- ANTECEDENTES | 6 |
| II.1.- Enfermedad de Parkinson | 7 |
| II.1.1.- Reseña histórica | 7 |
| II.1.2.- Nosología | 9 |
| II.1.3.- Epidemiología y etiología | 9 |
| II.1.4.- Patogenia | 11 |
| II.1.5.- Fisiopatología | 13 |
| II.1.6.- Neuropatología | 15 |
| II.1.7.- Clínica | 17 |
| II.1.8.- Diagnóstico | 19 |
| II.1.9.- Neuroimagen funcional | 20 |
| II.1.10.- Tratamiento | 22 |
| II.2.- Terapia celular en la enfermedad de Parkinson | 28 |
| II.2.1.- Primeros estudios en modelos animales | 28 |
| II.2.2.- Trasplantes de médula adrenal | 29 |
| II.2.3.- Trasplantes de mesencéfalo fetal humano | 33 |
| II.2.4.- Trasplantes de otras estirpes celulares | 49 |
| II.3.- Futuro de la terapia celular y otras estrategias neurorrestauradoras | 54 |
| II.3.1.- Células madre | 55 |
| II.3.2.- Células modificadas genéticamente | 58 |
| II.3.3.- Administración directa de factores neurotróficos | 59 |
| II.3.4.- Terapia génica <i>in vivo</i> | 62 |
| II.4.- Trasplante de agregados celulares del cuerpo carotídeo | 64 |
| II.4.1.- Estructura y función del cuerpo carotídeo | 64 |
| II.4.2.- Trasplantes del cuerpo carotídeo en modelos animales | 67 |
| II.4.3.- Efecto neurotrófico del trasplante del cuerpo carotídeo | 70 |
| III.- HIPÓTESIS Y OBJETIVOS | 74 |
| III.1.- Hipótesis | 75 |
| III.2.- Objetivo general | 75 |
| III.3.- Objetivos específicos | 75 |
| III.3.1.- Principales | 75 |
| III.3.2.- Secundarios | 75 |

| | |
|---|-----|
| IV.-PACIENTES Y MÉTODOS | 76 |
| IV.1.- Diseño del estudio | 77 |
| IV.2.- Sujetos del estudio | 77 |
| IV.2.1.- Criterios de inclusión | 77 |
| IV.2.2.- Criterios de exclusión | 78 |
| IV.3.- Periodo del estudio | 79 |
| IV.4.- Desarrollo general del estudio | 79 |
| IV.5.- Procedimiento quirúrgico | 83 |
| IV.5.1.- Extirpación y procesamiento del cuerpo carotídeo | 83 |
| IV.5.2.- Localización e implantación estereotáctica bilateral | 84 |
| IV.6.- Evaluaciones clínicas | 87 |
| IV.6.1.- Evaluación clínica básica | 87 |
| IV.6.2.- Estudio neuropsicológico | 89 |
| IV.6.3.- Estudio de la calidad de vida | 90 |
| IV.7.- Neuroimagen funcional | 91 |
| IV.7.1.- PET cerebral con ¹⁸ F-dopa | 91 |
| IV.7.2.- SPECT cerebral con ioflupano | 92 |
| IV.8.- Estudio histológico del cuerpo carotídeo | 93 |
| IV.9.- Variables del estudio | 95 |
| IV.9.1.- Variables resultado | 95 |
| IV.9.2.- Variables independientes | 97 |
| IV.10.- Análisis estadístico | 98 |
| | |
| V.- RESULTADOS | 101 |
| V.1.- Características prequirúrgicas | 102 |
| V.1.1.- Descripción general de los pacientes | 102 |
| V.1.2.- Comparación entre los pacientes de cada sub-estudio | 105 |
| V.1.3.- Asociación entre las variables prequirúrgicas | 106 |

| | |
|--|------------|
| V.2.- Viabilidad técnica y seguridad | 112 |
| V.2.1.- Viabilidad técnica | 112 |
| V.2.2.- Incidencia de acontecimientos adversos | 112 |
| V.2.3.- Otras variables relacionadas con la seguridad | 114 |
| V.3.- Eficacia clínica: variable resultado principal | 116 |
| V.3.1.- Correlación entre las evaluaciones abiertas y cegadas | 116 |
| V.3.2.- Evolución individual | 118 |
| V.3.3.- Análisis conjunto | 122 |
| V.4.- Eficacia clínica: variables secundarias | 127 |
| V.4.1.- Variables relacionadas con la función motora | 127 |
| V.4.2.- Variables funcionales | 129 |
| V.4.3.- Variables neuropsicológicas | 130 |
| V.4.4.- Variables relacionadas con la calidad de vida | 132 |
| V.5.- Efectos neuroquímicos | 134 |
| V.5.1.- Evolución individual | 134 |
| V.5.2.- Análisis conjunto | 137 |
| V.5.3.- Correlación entre los efectos neuroquímicos y clínicos | 141 |
| V.6.- Factores pronósticos prequirúrgicos | 145 |
| V.6.1.- Variable principal de eficacia clínica | 145 |
| V.6.2.- Variables clínicas secundarias | 153 |
| V.6.3.- Variables neuroquímicas | 155 |
| VI.- DISCUSIÓN | 158 |
| VI.1.- Pacientes del estudio | 160 |
| VI.1.1.- Tamaño muestral | 160 |
| VI.1.2.- Diagnóstico de enfermedad de Parkinson idiopática | 160 |
| VI.1.3.- Severidad de la enfermedad de Parkinson | 161 |
| VI.1.4.- Edad | 162 |
| VI.2.- Tejido donante: cuerpo carotídeo | 164 |
| VI.2.1.- Extirpación e integridad estructural | 164 |
| VI.2.2.- Cantidad de tejido | 164 |
| VI.2.3.- Integridad histológica | 165 |
| VI.2.4.- Estructura y función en la enfermedad de Parkinson | 165 |

| | |
|---|------------|
| VI.3.- Procedimientos técnicos | 167 |
| VI.3.1.- Procesamiento celular | 167 |
| VI.3.2.- Lugar de implantación | 167 |
| VI.3.3.- Variabilidad técnica..... | 168 |
| VI.4.- Seguridad | 169 |
| VI.4.1.- Complicaciones intracraneales | 169 |
| VI.4.2.- Disquinesias | 169 |
| VI.4.3.- Hipertensión arterial | 170 |
| VI.4.4.- Otras complicaciones diferidas | 171 |
| VI.5.- Eficacia clínica | 172 |
| VI.5.1.- Resultados en comparación con otros estudios | 172 |
| VI.5.2.- Factores explicativos de los cambios clínicos | 173 |
| VI.5.3.- Relevancia clínica de los resultados | 182 |
| VI.6.- Efectos neuroquímicos | 184 |
| VI.6.1.- Resultados en comparación con otros estudios | 184 |
| VI.6.2.- Factores explicativos de los cambios neuroquímicos | 185 |
| VI.7.- Mecanismo de acción de los trasplantes | 190 |
| VI.7.1.- Mecanismo dopaminérgico directo | 190 |
| VI.7.2.- Mecanismo de acción trófico | 191 |
| VI.8.- Perspectivas futuras | 193 |
| VI.8.1.- Huésped del trasplante | 193 |
| VI.8.2.- Tejido donante | 194 |
| VI.8.3.- Procedimientos técnicos | 195 |
| VII.- CONCLUSIONES | 196 |
| VIII.- BIBLIOGRAFÍA | 200 |
| IX.- ANEXOS | 229 |



INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Parkinson (EP) es un proceso degenerativo del sistema nervioso central de etiología desconocida. Se trata de un problema de salud de importancia creciente, que afecta a unas 100-300 personas por cada 100.000 habitantes en los países desarrollados, llegando hasta el 3% en la población mayor de 65 años (Moghal *et al.*, 1994; De Rijk *et al.*, 1997; Benito-León *et al.*, 1998). Los síntomas aparecen de forma insidiosa, siendo las manifestaciones clínicas fundamentales la bradicinesia e hipocinesia (lentitud y escasa amplitud de movimientos), la rigidez, el temblor y los trastornos de la postura, marcha y equilibrio. El curso clínico es progresivo produciendo discapacidad, así como deterioro de la calidad y la esperanza de vida (Morens *et al.*, 1996; Martínez-Martín y Koller, 1999; Marras *et al.*, 2002; Elbaz *et al.*, 2003).

En las últimas décadas se han producido grandes avances en el conocimiento de las bases neuroquímicas y anatómo-funcionales de la EP. Las principales manifestaciones motoras son consecuencia de la pérdida progresiva de las neuronas dopaminérgicas de la sustancia negra *pars compacta* y de sus proyecciones al núcleo estriado. Este déficit de dopamina estriatal condiciona la disfunción progresiva de determinados circuitos de los ganglios basales implicados en el control motor, como es la hiperfunción de la vía subtálamo-palidal. Sin embargo, aunque los mecanismos implicados en la muerte neuronal son en la actualidad mejor conocidos, las causas concretas que desencadenan el proceso permanecen inciertas. Aunque se conocen distintas formas genéticas de la enfermedad, se piensa que el origen de la EP esporádica podría ser multifactorial, estando implicados tanto factores genéticos como ambientales (Lang y Lozano, 1998a).

Hoy en día no se dispone de tratamientos capaces de prevenir, detener o revertir la degeneración neuronal nigro-estriatal ni, por tanto, de modificar la evolución progresiva de la EP. El tratamiento actual es sintomático y está basado en la administración de fármacos que potencian la función dopaminérgica cerebral. Aunque el tratamiento farmacológico es capaz de mejorar inicialmente las principales manifestaciones de la enfermedad, sin embargo se asocia con la aparición de

importantes complicaciones a medio y largo plazo: fluctuaciones en la situación motora del paciente, movimientos involuntarios o disquinesias, síntomas resistentes y manifestaciones psiquiátricas secundarias. Debido a esto, y a los avances científicos y técnicos, hemos asistido en la última década a un resurgimiento del tratamiento quirúrgico funcional, que consiste en producir una inhibición localizada en determinados núcleos cerebrales (como el globo pálido interno [Gpi] o el núcleo subtalámico [NST]) mediante la realización de una lesión, o mediante la implantación de electrodos de estimulación eléctrica crónica (revisado por Mínguez y Linazasoro, 2000; García *et al.*, 2000; Deuschl *et al.*, 2002). Estos procedimientos quirúrgicos son capaces de mejorar durante algún tiempo determinadas manifestaciones motoras; sin embargo, sólo son adecuados para algunos pacientes seleccionados y no modifican la evolución progresiva de la enfermedad. Por todo ello, en las últimas décadas se han investigado nuevas terapias con potencial efecto neuroprotector o neuroregenerador sobre el sistema dopaminérgico, como son la terapia celular (trasplante de diferentes células o tejidos) y la administración de factores neurotróficos.

El tratamiento experimental de la EP mediante el trasplante en el núcleo estriado de diferentes tejidos dopaminérgicos se inició en la década de los años 80, con el objetivo de reemplazar *in situ* el déficit de dopamina nigro-estriatal y regenerar en parte este sistema neuronal. Desde entonces se han realizado numerosos estudios básicos y clínicos, tanto en modelos animales como en pacientes con EP, sin que se haya alcanzado hasta el momento una solución definitiva. El trasplante de médula adrenal autóloga fue abandonado por su elevada morbilidad y escasa supervivencia celular. Tras más de una década de estudios, el trasplante de tejido mesencefálico fetal llegó a ser considerado como la mejor alternativa, al existir evidencias de la supervivencia e integración funcional del tejido implantado (Freed *et al.*, 1992; Sawle *et al.*, 1992; Kordower *et al.*, 1995; Lindvall, 1999). Sin embargo, existen importantes limitaciones que dificultan su aplicabilidad, como son los problemas de disponibilidad y ético-legales relacionados con la obtención de tejido fetal y la posibilidad de rechazo inmunológico. Además, los resultados de dos recientes estudios "doble-ciego" no han sido tan positivos como los de estudios abiertos previos: sólo los pacientes más jóvenes tuvieron cierto beneficio limitado en el tiempo, con el riesgo añadido de desarrollar

disquinesias severas (Freed *et al.*, 2001; Olanow *et al.*, 2003). Los xenotrasplantes, como los de tejido mesencefálico porcino, se han planteado como alternativa (Schumacher *et al.*, 2000); sin embargo, además de la posibilidad de rechazo, se añade el riesgo de transmitir infecciones entre especies. En cualquier caso, aunque con estas estrategias sea posible restaurar parcialmente el déficit dopaminérgico estriatal, no se ha demostrado que posean una auténtica capacidad neuroregenerativa sobre los sistemas neuronales dañados, por lo que su eficacia es necesariamente limitada.

Por todo ello, el futuro de la terapia celular pasa por la obtención y desarrollo de otras fuentes celulares capaces de ejercer efectos tróficos sobre el cerebro huésped, como los agregados celulares del cuerpo carotídeo (CC), las células madre embrionarias o del adulto, o distintas células modificadas genéticamente. También se están investigando otras terapias neuroregenerativas, como la administración directa de factores neurotróficos y la terapia génica *in vivo*.

El CC contiene células dopaminérgicas glómicas derivadas de la cresta neural que actúan como sensores de oxígeno, liberando dopamina en respuesta a la hipoxia (Ureña *et al.*, 1994; López-Barneo *et al.*, 2001). Esta estructura reúne una serie de características que la hacen particularmente interesante para la terapia celular en la EP (revisado por Toledo-Aral *et al.*, 2002):

- a) al contrario de lo que ocurre con la mayoría de células y tejidos, la hipoxia presente durante el proceso del trasplante favorece su crecimiento y capacidad funcional (McGregor *et al.*, 1984; Czyzyk-Krzeska *et al.*, 1992);
- b) constituye una importante fuente de factor neurotrófico derivado de la glía (GDNF), lo que le confiere capacidad neuroregenerativa (Toledo-Aral *et al.*, 2003);
- c) puede proceder del mismo individuo (autotrasplante), haciendo innecesaria la inmunosupresión;
- d) es fácilmente accesible, y su resección unilateral no conlleva problemas clínicos relevantes (Honda, 1992).

En modelos animales de EP (ratas hemiparkinsonizadas con 6-hidroxi-dopamina [6-OHDA] y monos tratados con 1-metil, 4-fenil, 1,2,3,6-tetrahidropiridina [MPTP]), el trasplante intraestriatal de agregados celulares del CC se integra en el cerebro huésped y es capaz de producir una notable recuperación histológica y funcional (Espejo *et al.*, 1998; Luquin *et al.*, 1999). Posteriormente se ha demostrado que su principal mecanismo de acción es la restauración neurotrófica del sistema nigro-estriatal del huésped (Toledo-Aral *et al.*, 2003). Estas evidencias experimentales han despertado el interés de la comunidad científica internacional, situando al trasplante del CC como una vía prioritaria de investigación en la EP (Rosenthal, 1998; Barinaga, 1998, Choi-Lundberg y Rosenthal, 1999, Luquín, 1999).

En este contexto, un primer estudio piloto ha demostrado que el autotrasplante de agregados celulares del CC es un procedimiento viable en pacientes con EP (Mínguez *et al.*, 2000, 2001; Arjona *et al.*, 2003). No obstante, se precisan nuevos estudios que permitan determinar, a medio y largo plazo, la seguridad, eficacia clínica y los efectos neuroquímicos *in vivo* de estos trasplantes, de tal forma que se pueda establecer su aplicabilidad futura en el tratamiento de la EP.



ANTECEDENTES

II.1.- ENFERMEDAD DE PARKINSON.-

La enfermedad de Parkinson (EP) representa un paradigma dentro de la historia de las Neurociencias. Su estudio ha despertado el interés de numerosos clínicos e investigadores a lo largo del último siglo, abriendo nuevos caminos en el conocimiento y tratamiento de las enfermedades neurodegenerativas. La evolución histórica de estos avances ilustra, como pocas veces, la interrelación entre la investigación básica y su aplicación a la clínica humana. De esta forma, los avances científicos se han ido traduciendo en relativamente poco tiempo en nuevos avances terapéuticos, como ha ocurrido con el desarrollo de los tratamientos farmacológicos, los actuales tratamientos quirúrgicos o la investigación en terapias neuroregenerativas (revisado por Mínguez, 2001). A continuación se exponen los principales conceptos y conocimientos actuales sobre esta enfermedad.

II.1.1.- Reseña histórica.-

El conocimiento científico de la EP se inició en 1817, fecha en la que el médico inglés James Parkinson publicó el libro “*An essay on the shaking palsy*” (un ensayo sobre la “parálisis agitante”), en el que describió con detalle las principales manifestaciones clínicas de la enfermedad (Parkinson, 1817 –reimpresión 1998-). Sin embargo, se piensa que la EP pudo existir desde siempre, de hecho se han hallado referencias a un cuadro similar en la antigua literatura ayurvédica de la India, entre los años 4500 y 1000 a. C. (Manyam, 1990). A lo largo de la segunda mitad del siglo XIX se profundizó en la descripción clínica, especialmente por los neurólogos de la escuela francesa como Trousseau, Charcot y sus discípulos. Por aquél entonces la enfermedad se clasificaba dentro del grupo de las “neurosis”, dónde se incluían aquellos procesos sin una base orgánica definida (Barraquer *et al.*, 2000). En las primeras décadas del siglo XX se produjo un cambio radical en la concepción de la EP, al quedar establecida su base neuropatológica: se descubrió la existencia de pérdida neuronal en la sustancia negra *pars compacta* y en otros núcleos del troncoencéfalo, y se describieron los denominados cuerpos de Lewy. En aquellos años, los recursos terapéuticos eran escasos: dejando aparte diversas terapias anecdóticas, el tratamiento farmacológico

prácticamente se limitó a la utilización de extractos de belladona hasta la introducción de los anticolinérgicos sintéticos en 1946 (Mark y Duvoisin, 1995). En los años 40-50 comenzó el desarrollo de la neurocirugía funcional, al establecerse de forma empírica que la lesión de determinadas áreas de los ganglios basales (globo pálido, *ansa lenticularis*, tálamo ventro-lateral) podían mejorar los síntomas parkinsonianos del hemicuerpo contralateral (Gildenberg, 1998).

En 1960, Ehringer y Hornykiewicz descubrieron la existencia de un déficit de dopamina en el estriado, lo que posibilitó el desarrollo posterior de un tratamiento farmacológico sustitutivo (Hornykiewicz, 1994). De esta forma, al inicio de la década de los años 70 ya se disponía de preparados de levodopa (junto a un inhibidor de la enzima dopa-decarboxilasa [DDC]), que se convirtieron en la base del tratamiento de la EP y modificaron su historia natural. Pronto se conoció que tras su uso crónico aparecían complicaciones, como fluctuaciones en la respuesta motora y movimientos involuntarios o disquinesias. A pesar de ello, la levodopa continúa siendo en la actualidad el tratamiento sintomático más efectivo (Lang y Lozano, 1998b).

En los años 70-80 se han conocido con mayor precisión las características neuroquímicas y la organización anatómico-funcional de los ganglios basales. En 1982, el descubrimiento casual del parkinsonismo inducido por MPTP, sustancia presente en una heroína sintética adulterada, supuso un importante avance en la investigación al posibilitar el desarrollo de un modelo experimental de EP en ratones y primates (Beal, 2001). En estas décadas, también se iniciaron los primeros trasplantes de diferentes células productoras de dopamina, tanto en modelos animales como en pacientes con EP. Asimismo, se comenzó el desarrollo de fármacos más específicos, como distintos agonistas dopaminérgicos e inhibidores enzimáticos.

En la década de los años 90 hemos asistido al resurgimiento del tratamiento neuroquirúrgico funcional, motivado por las limitaciones del tratamiento farmacológico a largo plazo y los nuevos avances científicos y técnicos. De esta forma, la estimulación cerebral profunda (ECP) constituye en la actualidad un valioso recurso para mejorar los síntomas de la enfermedad en determinados pacientes con complicaciones motoras. Más recientemente se han producido importantes avances en el conocimiento de los aspectos genéticos y patogénicos de la enfermedad. Después de más de 180 años de conocimiento científico de la EP, el auténtico reto para los próximos años será

desentrañar las causas y mecanismos responsables de la degeneración neuronal progresiva, e investigar nuevas terapias con potencial efecto neuroprotector y neurorestaurador, es decir, con capacidad para enlentecer, detener o incluso revertir el curso progresivo de la enfermedad.

II.1.2.- Nosología.-

La EP idiopática se define como una entidad clínico-patológica, es decir se precisa un cuadro clínico compatible y un examen *post-mortem* característico (pérdida neuronal en la sustancia negra *pars compacta* y otros núcleos del troncoencéfalo, con presencia de cuerpos de Lewy intracitoplasmáticos), tras excluir otros síndromes parkinsonianos de etiología conocida y otras enfermedades neurodegenerativas. Las limitaciones de los criterios clínicos, y la ausencia de marcadores biológicos inequívocos, hacen difícil obtener una certeza diagnóstica en vida, lo que complica la interpretación de los estudios epidemiológicos y clínicos sobre la enfermedad. La reciente descripción de formas genéticas con similares características a la EP esporádica nos lleva a especular que, probablemente, lo que hoy definimos como EP sea en realidad un conjunto de enfermedades con distintas causas, pero con una expresión clínica y patológica común (Tanner *et al.*, 2002). Además, la ausencia de cuerpos de Lewy en algunas de estas formas de parkinsonismo hereditario (PARK 2 y PARK 8 -véase más adelante-) podría hacer cuestionar la actual definición neuropatológica de la EP (García de Yébenes, 2001).

II.1.3.- Epidemiología y etiología.-

La EP se presenta en todas las zonas del mundo, en todas las razas y en ambos sexos. La prevalencia en nuestro medio se estima en 100-300 personas por cada 100.000 habitantes, llegando hasta el 3% en la población mayor de 65 años (Moghal *et al.*, 1994; Rijk *et al.*, 1997; Benito-León *et al.*, 1998). La incidencia oscila entre 5-26 nuevos casos por cada 100.000 habitantes y año (Schrag, 2002). La edad es el factor de riesgo más consistente, de tal forma que la prevalencia aumenta exponencialmente entre los 65 y 90 años. Sin embargo, puede aparecer a cualquier edad: hasta un 5-10% de los pacientes comienzan los síntomas antes de los 45 años (se denomina “EP de comienzo precoz”).

Aunque la gran mayoría de los casos de EP son esporádicos, existen familias con alta incidencia de EP, sugiriendo un patrón de herencia autosómico dominante con penetrancia incompleta o autosómico recesivo. Recientemente se han identificado distintas formas monogénicas de EP (**tabla II.1**), siendo mejor conocidas las asociadas al gen de la α -sinucleína y al gen de la parkina (Gasser, 2002). El parkinsonismo juvenil autosómico recesivo por mutaciones en el gen de la parkina está siendo ampliamente reconocido como una causa frecuente de parkinsonismo familiar en nuestro medio (Hoenicka *et al.*, 2002). El cuadro clínico se caracteriza por: comienzo en la adolescencia o juventud, frecuente distonía al inicio, fluctuaciones diurnas, progresión lenta, buena respuesta a levodopa y desarrollo precoz de complicaciones motoras; con ausencia de cuerpos de Lewy en los estudios neuropatológicos. La investigación de estos cuadros genéticos está aportando importantes datos sobre los diferentes mecanismos patogénicos de la enfermedad, que podrían confluir en una vía común relacionada con la ubiquitinización y degradación de proteínas (sistema ubiquitina-proteosoma).

| Locus | Cromosoma | Gen | Herencia |
|---------|-----------|----------------------|----------|
| PARK 1 | 4q21 | α -sinucleína | AD |
| PARK 2 | 6q25 | parkina | AR |
| PARK 3 | 2p13 | ¿? | AD |
| PARK 4 | 4p16 | ¿? | AD |
| PARK 5 | 4p14 | UCH-L1 | AD |
| PARK 6 | 1p35 | PINK1* | AR |
| PARK 7 | 1p38 | DJ-1 | AR |
| PARK 8 | 12p11 | dardarina* | AD |
| PARK 9 | 1p36 | ¿? | AR |
| PARK 10 | 1p32 | ¿? | S |

Tabla II.1.- Formas genéticas definidas de EP/Parkinsonismo. * Identificaciones más recientes, publicadas en 2004. Abreviaturas.- AD: autosómico dominante; AR: autosómico recesivo; S: susceptibilidad; UCH-L1: Ubiquitina carboxi-terminal L1-hidrolasa; ¿?: desconocido por el momento.

En los años 80, el descubrimiento de que determinados tóxicos (como el MPTP) podían producir parkinsonismo, hizo sospechar la posibilidad de que la EP fuera causada por factores ambientales. Sin embargo, no se ha llegado a identificar ningún

tóxico concreto que se asocie con la EP de presentación esporádica. En diferentes estudios epidemiológicos, los factores más constantemente relacionados con la enfermedad han sido: vivir en medio rural y ausencia del hábito de fumar; si bien la interpretación etio-patogénica de estas asociaciones es confusa. Numerosos estudios han buscado factores genéticos que pudieran predisponer a la acción tóxica de distintas sustancias. Uno de los mejor estudiados ha sido el polimorfismo CYP2D6, relacionado con el enzima detoxificante debrisoquina 4-hidroxilasa, sin embargo los resultados no han sido concluyentes. Otros autores han demostrado la existencia de una disfunción de base genética en el complejo I mitocondrial que podría potenciar el daño neuronal (Swerdlow *et al.*, 1996), sin embargo no ha sido posible determinar si se trata de una predisposición hereditaria o es consecuencia de la actuación de otros factores etiológicos. En otros estudios se han detectado genotipos que pudieran aumentar la susceptibilidad a padecer EP, como los relacionados con la expresión de α -sinucleína y Apo E (Kruger *et al.*, 1999) o con la expresión de tau (Pastor *et al.*, 2000). Recientemente se ha especulado que las mutaciones heterocigotas del gen parkin podrían constituir asimismo un factor de riesgo (Hoenicka *et al.*, 2002).

En definitiva, en la actualidad la etiología de la EP esporádica es desconocida. Existen crecientes evidencias de que se trata probablemente de una enfermedad poligénica (Scott *et al.*, 2001), de tal forma que variaciones concretas en distintos genes podrían predisponer a la acción de determinados factores ambientales, que actuarían como desencadenantes o moduladores de su desarrollo.

II.1.4.- Patogenia.-

La EP se caracteriza por la muerte progresiva de distintas poblaciones neuronales, fundamentalmente de las neuronas dopaminérgicas de la sustancia negra *pars compacta*. En los últimos años se han investigado múltiples mecanismos que podrían estar implicados en este proceso de degeneración neuronal. Entre los más consistentes cabe señalar:

- Estrés oxidativo: debido a un exceso de sustancias oxidantes, como los radicales libres, o a un déficit de mecanismos antioxidantes.
- Metabolismo catecolaminérgico (que incrementa el estrés oxidativo).
- Disfunción mitocondrial: déficit del complejo I de la cadena respiratoria.

- Excitotoxicidad: desinhibición de la actividad glutamatergica.
- Inflamación: activación microglial, con liberación de citoquinas.
- Apoptosis o muerte celular programada (proceso genéticamente controlado de autodestrucción celular).
- Déficit de factores neurotróficos.
- Disfunción del sistema ubiquitina-proteosoma: falta de destrucción de proteínas defectuosas, que se acumulan en agregados intracitoplasmáticos.

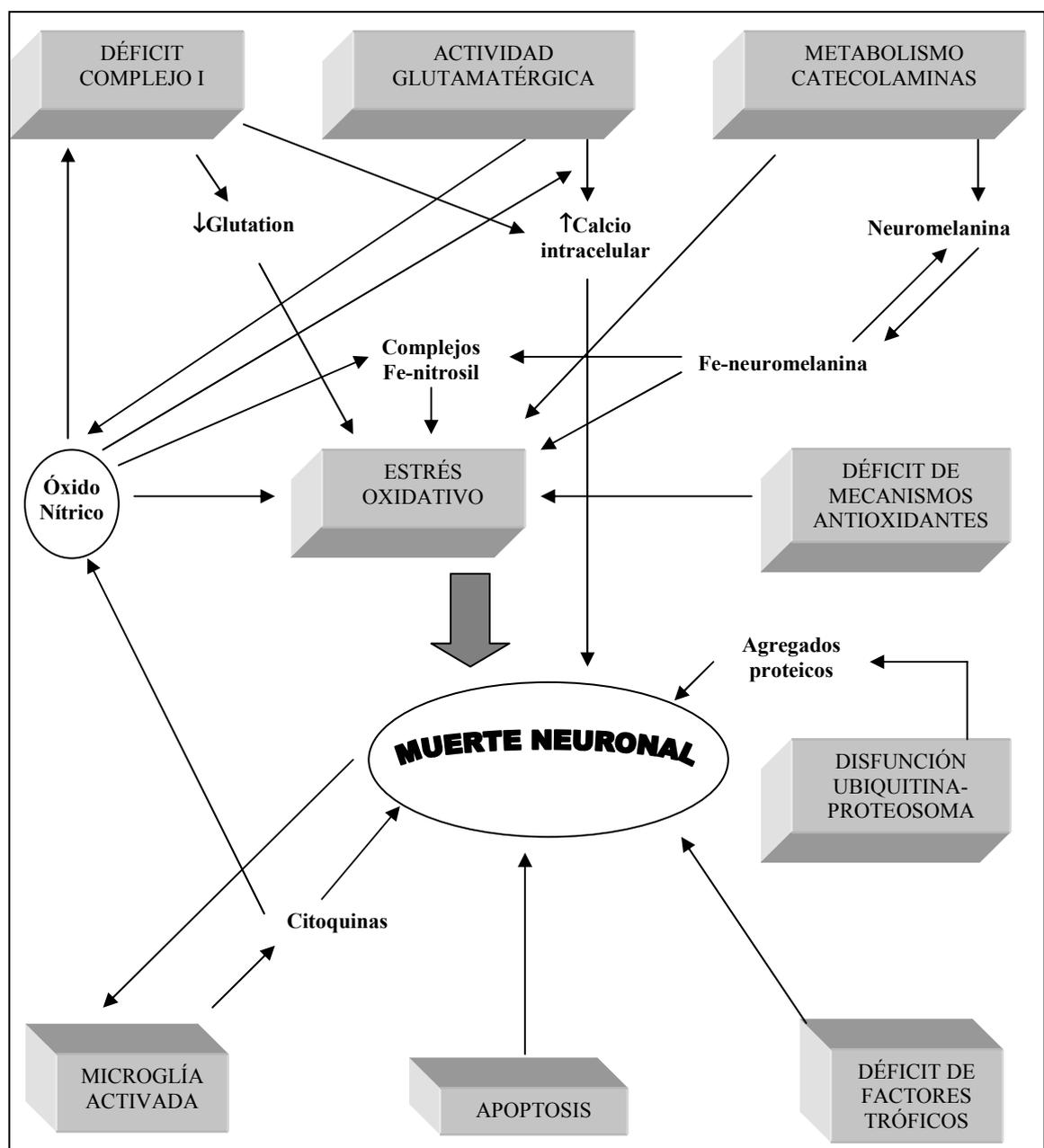


Figura II.1.- Mecanismos patogénicos en la EP (Mínguez, 2001; modificado).

Entre los factores mediadores, con un papel demostrado en el proceso de muerte neuronal, se encuentran los siguientes: radicales libres, óxido nítrico, hierro, déficit de glutatión reducido, calcio intracelular, neuromelanina y citoquinas. Todos estos mecanismos pudieran interactuar entre sí para producir la muerte neuronal progresiva (**figura II.1**), o pudieran predominar unos u otros en función de los factores etiológicos iniciales. Así, en las formas monogénicas, la disfunción del sistema ubiquitina-proteosoma podría ser el mecanismo fundamental (Olanow *et al.*, 2002).

Todas aquellas medidas capaces de interferir con estos mecanismos patogénicos y sus factores mediadores serían tratamientos potencialmente neuroprotectores, es decir, con capacidad para enlentecer o detener la degeneración neuronal. En este sentido se continúan investigando distintos tratamientos, entre los que se encuentran: antioxidantes, inhibidores de la sintetasa del óxido nítrico, quelantes del hierro, generadores de glutatión, inhibidores de la mono-amino oxidasa B (MAO-B), agonistas dopaminérgicos, antagonistas de los receptores N-metil-D-aspartato (NMDA) del ácido glutámico, agentes antiapoptóticos y la administración de distintos factores neurotróficos (revisado por Stocchi y Olanow, 2003).

II.1.5.- Fisiopatología.-

La degeneración progresiva de la vía nigro-estriada produce una depleción dopaminérgica en el estriado, que se inicia en la parte más dorsal del putamen y progresa afectando posteriormente al núcleo caudado (Kish *et al.*, 1988). Este déficit neuroquímico condiciona cambios funcionales secundarios en los principales circuitos relacionados con los ganglios basales: motor, oculomotor, prefrontal dorsolateral, orbitofrontal lateral y límbico. Estudios realizados en primates tratados con MPTP han permitido conocer mejor la organización anatomo-funcional del circuito motor, habiéndose propuesto un modelo básico de funcionamiento (DeLong, 1990; Obeso *et al.*, 1997b). Según este modelo, las eferencias estrio-palidales se subdividen en dos: una vía directa monosináptica (mediada por receptores D1) y otra vía indirecta polisináptica (mediada por receptores D2). En la EP existiría un aumento de actividad en la vía indirecta y un descenso en la vía directa, resultando en la hiperactividad del NST y del Gpi, lo que funcionalmente se traduce en una inhibición del movimiento (**figura II.2**).

Sin embargo, este modelo no consigue explicar en su totalidad toda la clínica motora de la EP, ni predice con exactitud la respuesta clínica observada tras lesionar quirúrgicamente el tálamo o el Gpi (Marsden y Obeso, 1994). Por ello se piensa que los cambios en el patrón temporal de descarga de estos circuitos podrían desempeñar un papel primordial, más allá de la simple excitación o inhibición neuronal. De hecho, el funcionamiento de los ganglios basales parece ser más complejo, constituyendo una red dinámica altamente organizada implicada también en el procesamiento cognitivo y emocional de la conducta motora (Obeso *et al.*, 2000).

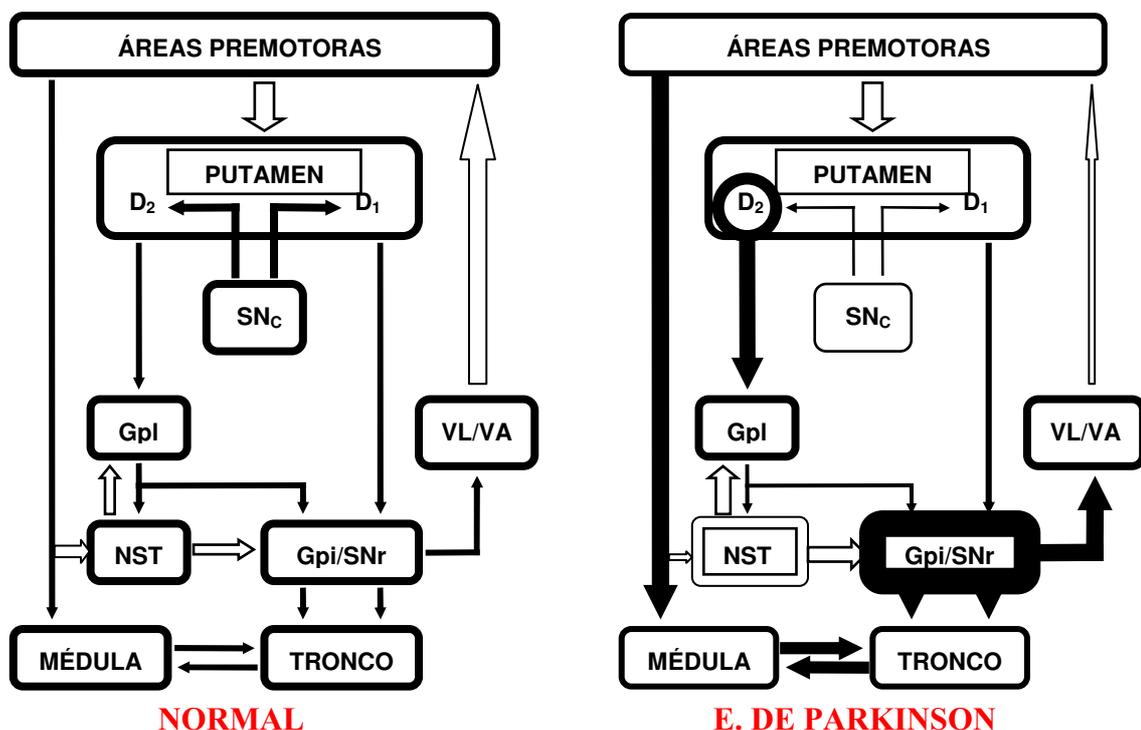


Figura II.2.- Organización anatómico-funcional de los ganglios basales en situación normal (izquierda) y en la EP (derecha). Las flechas blancas representan vías excitatorias (glutamatérgicas) y las flechas negras vías inhibitorias (gabaérgicas); el grosor de las flechas y recuadros indica el grado de actividad funcional de cada vía o estructura.

Abreviaturas.- D1 y D2: subtipos de receptores dopaminérgicos; GPi/SNr: globo pálido interno y sustancia negra *pars reticulata*; Gpl: globo pálido lateral; NST: núcleo subtalámico; SN_c: sustancia negra *pars compacta*; VL/VA: núcleos talámicos ventrolateral y ventral anterior. (Obeso *et al.*, 1997, modificado).

II.1.6.- Neuropatología.-

La característica neuropatológica fundamental de la EP es la pérdida neuronal y gliosis progresiva de la sustancia negra *pars compacta* y de otros núcleos del troncoencéfalo, junto con el hallazgo de neuritas y cuerpos de Lewy intraneuronales (Muñoz, 1999) (**figuras II.3a y II.3b**). Los cuerpos de Lewy intracitoplasmáticos son inclusiones hialinas eosinófilas con un centro denso y un halo claro periférico, que contienen neurofilamentos y diverso material granular, incluyendo depósitos de ubiquitina y α -sinucleína (Braak y Braak, 2000). Estos cuerpos son característicos de la EP, pero no específicos, por lo que podría tratarse de un marcador indirecto, no necesariamente relacionado con los mecanismos etio-patogénicos iniciales de la enfermedad (Lang y Lozano, 1998a).

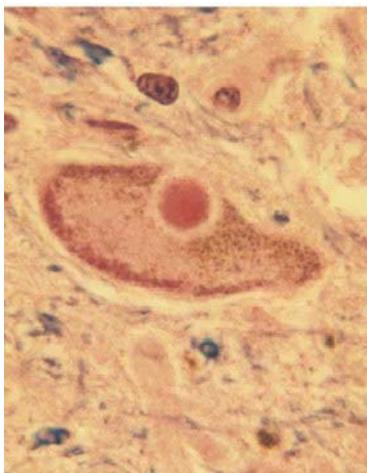


Figura II.3a (arriba): Cortes macroscópicos del mesencéfalo mostrando falta de pigmentación en la sustancia negra en un paciente con EP avanzada (derecha) comparado con un control normal (izquierda).

Figura II.3b (derecha): Cuerpo de Lewy típico en el citoplasma de una neurona dopaminérgica de la sustancia negra *pars compacta*. Tinción de hematoxilina-eosina y Luxol azul rápido; x 100. (Lang y Lozano, 1998a).

La progresión de la pérdida neuronal en la sustancia negra *pars compacta* sigue un patrón relativamente específico, opuesto al que ocurre en el envejecimiento fisiológico: se inicia en su parte ventro-lateral, y continúa por las partes ventro-medial y dorsal. En estudios *post mortem* se ha estimado que el inicio de los síntomas tiene lugar al menos 5 años después de los primeros cambios neuropatológicos en esta estructura, cuando ya se ha perdido el 60-70% de su población neuronal (Fearnley y Lees, 1991).

Otras poblaciones aminérgicas del troncoencéfalo también se afectan, como el *locus ceruleus* y los núcleos del rafe, ocasionando un déficit neuroquímico en los sistemas noradrenérgico y serotoninérgico, respectivamente. Igualmente, se han descrito cambios patológicos en el bulbo olfatorio, núcleo basal de Meynert, hipotálamo, hipocampo, y córtex cerebral (particularmente en el giro cingulado y la región entorrinal). El sistema nervioso autónomo central y periférico se ve afectado de forma precoz, con lesiones en el núcleo dorsal del vago, en la columna intermedio-lateral de la médula espinal, en los ganglios simpáticos y en los ganglios parasimpáticos entéricos (Wakabayashi y Takahashi, 1997). Se desconocen las causas por las que se dañan de forma selectiva estas poblaciones neuronales, pudiendo estar en relación con su elevado metabolismo oxidativo o con su mayor dependencia funcional del sistema ubiquitina-proteosoma (Olanow *et al.*, 2002).

Recientemente, Braak y colaboradores han propuesto un estadiaje patológico de la EP, basándose en el estudio detallado de 110 cerebros que presentaban lesiones típicas (neuritas y cuerpos de Lewy con inmunorreactividad para α -sinucleína) en localizaciones características de esta enfermedad (Braak *et al.*, 2003) (**tabla II.2**). Este estudio pone en evidencia que el proceso patológico de la EP sigue una secuencia topográficamente definida, que se inicia en el bulbo raquídeo y progresa en dirección rostral. Cuando aparecen los primeros síntomas motores (sobre el estadio IV de Braak), ya se ha producido un daño importante en numerosas poblaciones neuronales.

| Estadio | Estructura | Poblaciones neuronales |
|---------|----------------------|---|
| I | bulbo olfatorio | bulbo olfatorio y núcleo olfatorio anterior |
| | bulbo raquídeo | núcleo motor dorsal del vago |
| II | + tegmento pontino | subnúcleos de la formación reticular <i>locus ceruleus</i> |
| | | núcleos del rafe |
| III | + mesencéfalo | sustancia negra <i>pars compacta</i> |
| IV | + prosencéfalo basal | núcleo basal de Meynert |
| | | hipotálamo |
| | + mesocórtex | hipocampo (sector 2 del asta de Amón) giro cingulado y córtex entorrinal |
| V | + neocórtex | áreas asociativas sensitivas y córtex prefrontal |
| VI | + neocórtex | áreas asociativas sensitivas de primer orden y premotoras áreas sensitivas y motoras primarias |

Tabla II.2.- Estadios patológicos de la EP (Braak *et al.*, 2003, modificado). Cada estadio se caracteriza por la progresión del daño patológico en las localizaciones señaladas en estadios previos, más el comienzo de la afectación en nuevas poblaciones neuronales.

En definitiva, si los principales síntomas motores de la EP son consecuencia del déficit dopaminérgico nigro-estriado, la afectación extensa y precoz de otras estructuras extra-nígricas es, sin duda, responsable de otras manifestaciones de la enfermedad, como son los trastornos cognitivos, la depresión y los síntomas disautonómicos. En la actualidad se considera que la EP es, en realidad, una enfermedad multisistémica de curso progresivo. En este sentido, hay que tener en cuenta que los modelos animales actuales, con daño selectivo de las neuronas dopaminérgicas nígricas, podrían no reflejar adecuadamente la complejidad de la enfermedad humana (Braak y Braak, 2000).

II.1.7.- Clínica.-

Las manifestaciones clínicas cardinales de la EP son: bradicinesia-hipocinesia (lentitud y escasa amplitud de movimientos), rigidez y temblor de reposo. Los síntomas predominantes y la forma de presentación varían de un paciente a otro, siendo característico el comienzo asimétrico en un hemicuerpo. El curso clínico es progresivo, con extensión de los síntomas al otro hemicuerpo y posterior afectación de la postura,

marcha y reequilibración. A lo largo de la evolución los pacientes pueden presentar otras manifestaciones clínicas, entre las que se incluyen: trastornos del habla, de la deglución, sialorrea, seborrea facial, estreñimiento, trastornos urinarios, disfunción sexual, alteración de la termorregulación, hipotensión ortostática, síntomas sensitivos, trastornos del sueño, depresión y deterioro cognitivo.

La respuesta al tratamiento con levodopa es característica, y su uso crónico ha modificado la historia natural de la enfermedad. De esta forma, en la actualidad pueden identificarse tres estadios evolutivos (Obeso *et al.*, 1999; modificado):

1. Estadio inicial: síntomas asimétricos predominantes en un hemicuerpo; buena respuesta al tratamiento con levodopa, con un efecto clínico de “larga duración” en relación a las tomas del fármaco.
2. Estadio intermedio: síntomas bilaterales y axiales moderados; buena respuesta al tratamiento con levodopa, con un efecto clínico de “media duración” tras las tomas (fluctuaciones motoras simples de intensidad leve o moderada) y con inducción de movimientos involuntarios o disquinesias.
3. Estadio avanzado: síntomas bilaterales y axiales acusados en ausencia de medicación (situación “off”); la levodopa mejora los principales síntomas motores, pero el efecto clínico de cada toma es con frecuencia de “corta duración” o errático (fluctuaciones motoras complejas o fenómeno “on-off”) e induce disquinesias. Más tardíamente aparecen síntomas con escasa respuesta a la levodopa (persistencia de disartria, desequilibrio o hipocinesia en situación “on”), son frecuentes los trastornos cognitivos y los síntomas psicóticos (alucinaciones, delirios) inducidos por la medicación.

La evolución clínica es variable de uno a otro paciente (Zetuský, 1988), lo que apoya la probable heterogeneidad etiopatogénica de la enfermedad. Por ejemplo, la presencia de temblor de reposo como manifestación predominante se ha relacionado con un curso clínico más benigno (Marras *et al.*, 2002; Elbaz *et al.*, 2003). Por tanto, la duración de los estadios evolutivos expuestos es variable, y sus límites no están claramente definidos. Sin embargo, con frecuencia el primer estadio ocupa los 3-5 primeros años tras el diagnóstico e inicio del tratamiento, el segundo los 5-10 primeros años, y el tercero a partir de los 10-12 años de evolución clínica (Obeso *et al.*, 1999). A

pesar del tratamiento farmacológico, la EP produce discapacidad progresiva (Marras *et al.*, 2002), deterioro de la calidad de vida (revisado por Martínez-Martín y Koller, 1999) y reducción de la esperanza de vida (Morens *et al.*, 1996; Elbaz *et al.*, 2003).

II.1.8.- Diagnóstico.-

En la actualidad el diagnóstico de EP en vida es esencialmente clínico, es decir, está basado en la presencia de los síntomas y signos característicos, y en su evolución temporal (Alberca, 1996). No existen en la actualidad marcadores biológicos que permitan un diagnóstico inequívoco (Lang y Lozano, 1998a). Ante un cuadro clínico compatible, se hace necesario realizar el diagnóstico diferencial con otros parkinsonismos secundarios: de causa farmacológica, tóxica, vascular, metabólica, infecciosa, traumática, por neoplasia o hidrocefalia. En este sentido son útiles los datos de la historia clínica y las pruebas de neuroimagen. Sin embargo, la mayor dificultad radica en diferenciar la EP idiopática de otros síndromes parkinsonianos degenerativos (Alberca *et al.*, 2000). De hecho, en estudios *post-mortem*, el diagnóstico de EP realizado en vida fue incorrecto hasta en el 24% de los casos (Rajput *et al.*, 1991; Hughes *et al.*, 1993). Estos síndromes son, fundamentalmente, la atrofia multisistémica (tipo degeneración estriónigric), la enfermedad por cuerpos de Lewy difusos, y *taupatías* como la parálisis supranuclear progresiva y la degeneración corticobasal. En el diagnóstico diferencial con frecuencia es necesario el seguimiento evolutivo, valorando la aparición de otros datos clínicos más característicos de estas entidades, así como el grado y duración de la respuesta a la levodopa.

Se han propuesto criterios clínicos para el diagnóstico de EP basados en estudios *post-mortem*, tras haber analizado la correlación clínico-patológica. Entre ellos están los criterios del Banco de cerebros de Londres (Gibb y Lees, 1988), ampliamente utilizados en investigación clínica por su mayor especificidad (véase apartado IV.2.1). Sin embargo, desde el punto de vista epidemiológico es preferible utilizar en primer lugar criterios menos estrictos, con mayor sensibilidad diagnóstica. En la práctica clínica habitual, el seguimiento clínico y la respuesta terapéutica son las claves que apoyan el diagnóstico de EP idiopática (Gelb *et al.*, 1999).

II.1.9.- Neuroimagen funcional.-

En los últimos años, el desarrollo de las técnicas de neuroimagen funcional, como la tomografía por emisión de positrones (PET) y la tomografía por emisión de fotón simple (SPECT), ha hecho posible evaluar *in vivo* la actividad neuroquímica cerebral en los trastornos del movimiento (revisado por Brooks, 1997, 2002). Mediante la utilización de distintos trazadores, es posible medir la actividad metabólica, la función de determinados neurotransmisores, o la distribución de receptores en diferentes áreas. El PET tiene una mayor sensibilidad y resolución espacial pero, por sus características, su uso en este campo está prácticamente limitado a la investigación. El SPECT es más accesible para su aplicación clínica, y su uso como apoyo diagnóstico en los trastornos del movimiento está siendo cada vez más extendido (revisado por Lees y Grosset, 2003).

La función dopaminérgica presináptica del estriado se puede cuantificar utilizando PET con ^{18}F -dopa, que refleja el transporte de dopa hacia la terminal, la actividad del enzima DDC y la capacidad de almacenamiento de dopamina (**figura II.4**). También puede evaluarse mediante SPECT con análogos del tropano (como ^{123}I - β -CIT o ^{123}I -FP-CIT [ioflupano], entre otros), que miden la densidad del transportador de dopamina (DAT) presináptico. Estos estudios aportan datos objetivos acerca del grado de degeneración de la vía nigro-estriada, siendo por tanto útiles para el diagnóstico presintomático de la EP, para evaluar la progresión de la enfermedad y, en el caso de los trasplantes, para comprobar su supervivencia y funcionalidad de forma evolutiva. Otros estudios, como los que miden el metabolismo de la glucosa (PET con ^{18}F FDG), o la densidad de receptores postsinápticos D2 en el estriado (PET con ^{11}C -raclopride, SPECT con ^{123}I -IBZM), pueden aportar datos en el diagnóstico diferencial entre la EP y otros síndromes parkinsonianos degenerativos.

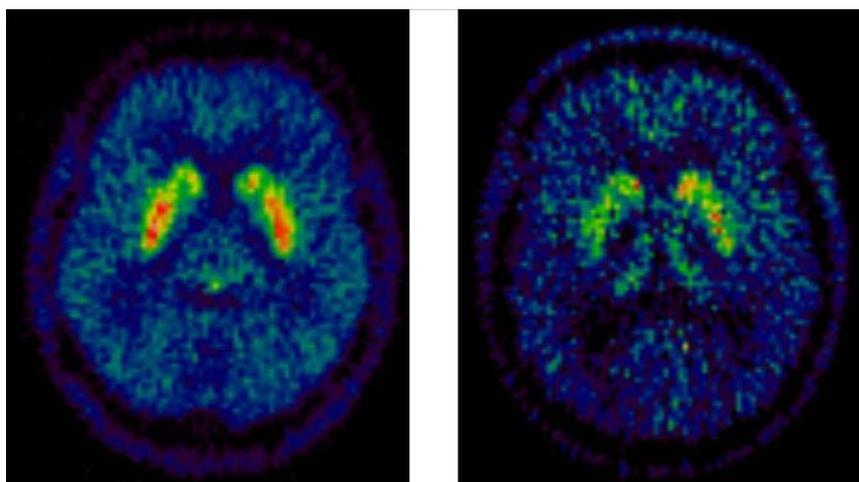


Figura II.4.- PET con ^{18}F -dopa en situación normal (izquierda) y en la EP (derecha), mostrando una marcada reducción de la captación en el estriado bilateral. (Brooks, 2002).

En pacientes con EP, la captación estriatal de ^{18}F -dopa medida mediante PET se correlaciona bien con los niveles de dopamina estriatal y con la densidad celular de la sustancia negra (Snow *et al.*, 1993). Por tanto, este estudio es un buen marcador de la función dopaminérgica presináptica, si bien hay que tener en cuenta que probablemente sobrestima la densidad de terminales debido a la “regulación al alza” del enzima DDC secundaria a la pérdida de células nigricas (Lee *et al.*, 2000). En la EP, la reducción en la captación de ^{18}F -dopa se inicia en la parte más dorsal y posterior del putamen, afectando posteriormente al núcleo caudado (Morrish *et al.*, 1996). Cuando se inician los síntomas de la enfermedad, se estima que la captación de ^{18}F -dopa en el putamen ya se ha reducido al menos un 30%, continuado en los años siguientes con una pérdida media del 9% anual. En el mismo estudio se ha determinado que la ventana para la detección presintomática de la enfermedad podría ser de 6 ± 3 años (Morrish *et al.*, 1998).

El PET con ^{18}F -dopa se considera en la actualidad una herramienta primordial en la evaluación de tratamientos potencialmente neuroprotectores o neuroregenerativos en la EP (Brooks, 2000, 2003). En los trasplantes intraestriatales de células dopaminérgicas puede aportar datos sobre la capacidad funcional de los implantes, por lo que este estudio se recomienda actualmente en los protocolos de evaluación más aceptados (Langston *et al.*, 1992; Defer *et al.*, 1999). Se han publicado estudios seriados mediante PET con ^{18}F -dopa en varios grupos de pacientes intervenidos mediante trasplante de tejido mesencefálico fetal, habiéndose documentado en muchos de ellos un incremento

progresivo de la captación putaminal, que se mantiene a largo plazo (véase revisión en el apartado II.2.3). La correlación con los cambios clínicos y los estudios *post-mortem* en algunos de estos pacientes sugiere que el PET con ^{18}F -dopa mide realmente la supervivencia y función del implante, en lugar de reflejar posibles cambios inflamatorios o disrupción de la barrera hemato-encefálica (Brooks, 2002).

II.1.10.- Tratamiento.-

Lejos todavía de un hipotético tratamiento preventivo o curativo (etiológico), los abordajes terapéuticos actuales o en investigación para la EP pueden subdividirse en:

- Tratamiento sintomático: farmacológico, cirugía funcional y otras terapias.
- Tratamiento neuroprotector (con capacidad para enlentecer o detener la progresión de la enfermedad).
- Tratamiento neurorestaurador o neuroregenerativo (con capacidad para revertir, al menos parcialmente, el daño producido por la enfermedad).

Tratamiento sintomático.-

Las medidas terapéuticas actuales para la EP son esencialmente sintomáticas (Goetz *et al.*, 2002). Su indicación se realiza de forma individualizada, con el objetivo de mejorar, durante el mayor tiempo posible, la capacidad funcional y la calidad de vida de los pacientes. En este apartado se incluyen: el tratamiento farmacológico, el tratamiento quirúrgico funcional y otras terapias sintomáticas.

a) Tratamiento farmacológico.-

Se plantea habitualmente cuando los síntomas de la enfermedad comienzan a interferir con la capacidad funcional o la calidad de vida de los pacientes. La elección del tratamiento inicial depende de diversos factores, como la edad, la existencia de otras enfermedades y la repercusión funcional de los síntomas predominantes (Mínguez, 2001). Hoy en día disponemos de los siguientes fármacos:

- Levodopa.- Es el tratamiento sintomático más efectivo para la EP (Lees, 2002). Se administra junto con un inhibidor del enzima DDC, que aumenta su biodisponibilidad y tolerancia. También se han comercializado formas de liberación retardada, que pueden ser útiles en determinadas situaciones clínicas. Sin embargo,

el tratamiento crónico con levodopa se asocia con complicaciones motoras: a los 5 años de tratamiento un 50% de los pacientes ya ha desarrollado fluctuaciones en la respuesta motora y movimientos involuntarios o disquinesias (Miyawaki *et al.*, 1997), siendo más frecuentes en pacientes jóvenes (Golbe, 1991). Por ello y, especialmente en estos pacientes, se consideran habitualmente otras alternativas como tratamiento inicial.

- Agonistas dopaminérgicos.- Actúan sobre los receptores dopaminérgicos post-sinápticos del estriado. Su efecto sintomático es menor que el de la levodopa, sin embargo tienen una mayor duración de acción y estimulan los receptores de una forma más fisiológica (tónica en vez de pulsátil). Los agonistas orales se utilizan como terapia de inicio o como coadyuvante, habiéndose comercializado derivados ergóticos (bromocriptina, lisurida, pergolida y cabergolina) y no ergóticos (ropinirol y pramipexol). La apomorfina es un potente agonista dopaminérgico que se utiliza por vía subcutánea en pacientes seleccionados con complicaciones motoras.
- Selegilina (deprenil).- Se trata de un inhibidor del enzima MAO-B con leve eficacia sintomática y posible efecto neuroprotector. Se utiliza fundamentalmente en estadios iniciales de la enfermedad.
- Inhibidores de la catecol-O-metil-transferasa (COMT).- Estos fármacos (como entacapona) interfieren con la degradación de dopamina, prolongando la duración del efecto de la levodopa.
- Otros fármacos para los síntomas motores.- Los anticolinérgicos de acción central (trihexifenidilo, biperideno) tienen efecto sintomático sobre el temblor de reposo y se utilizan en situaciones clínicas concretas. La amantadina se puede usar como tratamiento inicial o, más frecuentemente en la actualidad, como fármaco antidisquinético (debido probablemente a su efecto antagonista de los receptores NMDA).
- Fármacos para otras manifestaciones no motoras.- A lo largo de la evolución pueden ser útiles otros fármacos como: antidepresivos, antieméticos, laxantes, relajantes musculares, o para los trastornos disautonómicos, como la hipotensión ortostática o la disfunción vesical. En los últimos años se han desarrollado neurolépticos atípicos, como la clozapina y la quetiapina, capaces de mejorar la psicosis dopaminérgica sin empeorar los síntomas motores de la EP.

b) Tratamiento quirúrgico funcional.-

Se plantea en aquellos pacientes con EP idiopática que presentan síntomas motores especialmente invalidantes y no obtienen un mayor beneficio con tratamiento farmacológico. Su objetivo es producir una inhibición funcional en determinadas áreas cerebrales (núcleo ventral intermedio talámico [Vim], Gpi o NST) con el fin de paliar la intensidad de estos síntomas (revisado por Mínguez y Linazasoro, 2000; García *et al.*, 2000; Deuschl *et al.*, 2002).

Las técnicas quirúrgicas actuales son de dos tipos: procedimientos ablativos, en los que se realiza una pequeña lesión de forma controlada; y la estimulación cerebral profunda (ECP), que consiste en la implantación de electrodos intracraneales conectados a un generador de impulsos eléctricos o “marcapasos”. Por este sistema, la estimulación eléctrica a alta frecuencia produce una inhibición funcional del área diana, con efectos clínicos similares a los de la lesión. Sin embargo, al contrario que ésta, la ECP es un procedimiento reversible, adaptable en el tiempo (se pueden modificar los parámetros de estimulación según se precise), y se asocia con una menor morbilidad. Estas ventajas hacen posible la realización de procedimientos bilaterales con mayor seguridad, teniendo en cuenta que las lesiones bilaterales se acompañan con frecuencia de importantes secuelas (Obeso *et al.*, 1997c).

En la práctica clínica, el tratamiento quirúrgico funcional de la EP se considera principalmente en los siguientes dos supuestos:

- EP con temblor severo como manifestación predominante: La diana clásica para tratar diferentes tipos de temblor es el Vim: talamotomía o ECP talámica. Sin embargo, aunque con estos procedimientos se consigue la abolición del temblor contralateral en el 70-90% de los casos, no se obtiene mejoría relevante sobre otros síntomas motores de la enfermedad. Por ello, solo podrían tener un beneficio sustancial aquellos pacientes con EP de claro predominio tremórico y curso clínico relativamente benigno (Mínguez, 2000). En el resto de pacientes, la ECP del NST uni- o bilateral es en la actualidad la alternativa más aceptada (Krack *et al.*, 1998).
- EP avanzada con complicaciones motoras: La lesión del Gpi (palidotomía) unilateral mejora las disquinesias y los síntomas parkinsonianos contralaterales, sin embargo este efecto es habitualmente insuficiente a medio plazo para muchos pacientes,

debido a la progresión de los síntomas ipsilaterales y axiales (Escamilla *et al.*, 2000). Por ello, en la actualidad se plantea habitualmente una intervención bilateral mediante ECP del Gpi o del NST. Estos procedimientos han demostrado eficacia sintomática a largo plazo en la EP avanzada (DBS Study Group, 2001; Krack *et al.*, 2003; Mínguez-Castellanos *et al.*, 2005), con incidencia en la calidad de vida de los pacientes (Martínez-Martín *et al.*, 2002; Escamilla, 2003; Escamilla *et al.*, 2004).

Aunque la ECP del Gpi o del NST han llegado a ser en la actualidad una importante herramienta en el tratamiento sintomático de la EP avanzada, hay que tener en cuenta que:

- Su indicación está limitada a pacientes seleccionados en los que el balance beneficio/riesgo se estima positivo. No se considera un procedimiento adecuado para pacientes funcionalmente indemnes, ni para aquellos que ya han desarrollado síntomas tardíos refractarios a la levodopa (Lang, 2003).
- No sustituye al tratamiento farmacológico. Aunque tras la ECP del NST habitualmente es posible reducir la dosis de medicación (en ocasiones de forma importante), esta estrategia podría estar relacionada con una mayor incidencia de problemas posquirúrgicos en la esfera psíquico-afectiva (Lang *et al.*, 2003; Houeto *et al.*, 2003).
- No se ha demostrado que modifique la evolución progresiva de la EP y, por tanto, el beneficio clínico es necesariamente limitado en el tiempo. Este momento está condicionado por la aparición de manifestaciones clínicas refractarias al tratamiento (hipocinesia, disartria o desequilibrio en situación “on”, deterioro cognitivo), que inciden de forma importante en la calidad de vida (Krack *et al.*, 2003).

Por todo ello, se considera prioritario seguir investigando otros procedimientos quirúrgicos con potencial efecto neuroprotector o neurorestaurador, como son los trasplantes y la administración de factores tróficos (Dunnett *et al.*, 2001; Linazasoro *et al.*, 2002).

c) Otras terapias sintomáticas.-

Algunas modificaciones en los hábitos de vida y otras medidas terapéuticas pueden ayudar al paciente a obtener un mayor bienestar físico y psíquico en su

convivencia con la enfermedad. Entre estas se incluyen el ejercicio diario, una dieta y hábitos de sueño adecuados y, en determinados casos, la rehabilitación, la terapia ocupacional, la logopedia o la psicoterapia.

Tratamiento neuroprotector.-

Ningún tratamiento, entre los actualmente disponibles, ha demostrado de forma definitiva enlentecer la evolución progresiva de la EP (Goetz *et al.*, 2002).

Existen evidencias experimentales de que selegilina, un inhibidor del enzima MAO-B, podría tener efecto neuroprotector. Además de la disminución del metabolismo oxidativo, se han implicado otros posibles mecanismos, como la reducción de la excitotoxicidad y de la apoptosis (revisado por Olanow *et al.*, 1999). Sin embargo, los estudios clínicos no han sido concluyentes en este sentido, aunque si han demostrado que posee un leve efecto sintomático (Parkinson Study Group, 1993). También se están estudiando otros inhibidores de la MAO-B como lazabemida (Parkinson Study Group, 1996) y rasagilina (Parkinson Study Group, 2002, 2004). Los agonistas dopaminérgicos también podrían tener un efecto neuroprotector respecto a la levodopa, al reducir indirectamente el metabolismo oxidativo (Shapira y Olanow, 2003).

El papel en el proceso degenerativo de la excitotoxicidad relacionada con la hiperactividad glutamatérgica está recibiendo atención creciente en los últimos años. De esta forma se están investigando distintos antagonistas de los receptores NMDA, como memantina, dextrometorfán, remacemida o ifenprodil. El riluzol, fármaco utilizado en la esclerosis lateral amiotrófica, parece tener efecto neuroprotector en el modelo del primate tratado con MPTP (Obinu *et al.*, 2002); sin embargo los primeros ensayos clínicos en pacientes con EP no muestran claros beneficios (Jankovic y Hunter, 2002; Braz *et al.*, 2004). La subtalamotomía también podría tener un efecto neuroprotector, al haberse demostrado en modelos animales que la reducción de actividad en la vía subtalámico-nígrica (glutamatérgica) previene la degeneración de las neuronas dopaminérgicas (Piallat *et al.*, 1996; Nakao *et al.*, 1999).

Asimismo, se continúan investigando fármacos capaces de interferir con otros mecanismos patogénicos de la enfermedad, o con sus factores mediadores (véase **figura II.1**). Entre ellos se encuentran distintos antioxidantes, la coenzima Q₁₀, inhibidores de la sintetasa del óxido nítrico, quelantes del hierro, generadores de glutatión, neuroinmunofilinas y agentes antiapoptóticos (revisado por Stocchi y Olanow, 2003).

Tratamiento neurorrestaurador o neurorregenerativo.-

En este apartado se incluyen aquellos tratamientos que, además de su posible efecto neuroprotector, tuvieran capacidad de revertir, al menos parcialmente, el daño producido por la enfermedad. Son fundamentalmente la terapia celular, la administración directa de factores neurotróficos y las distintas aplicaciones de la terapia génica. En la actualidad todos ellos son tratamientos experimentales y se abordarán en las secciones siguientes.

II.2.- TERAPIA CELULAR EN LA ENFERMEDAD DE PARKINSON (EP).-

La terapia celular se considera un abordaje racional en la EP por los siguientes motivos:

1. Existe un daño selectivo en una población neuronal concreta (sustancia negra *pars compacta*), que se traduce en un déficit neuroquímico específico (dopamina) en un área definida (el cuerpo estriado, compuesto por putamen y núcleo caudado).
2. Los fármacos dopaminérgicos producen un importante beneficio, por lo que éste déficit neuroquímico es responsable de gran parte de su expresión clínica.
3. La administración oral de levodopa induce una estimulación pulsátil de los receptores postsinápticos, lo que se relaciona con la aparición de complicaciones motoras.
4. Las células dopaminérgicas son capaces de estimular estos receptores de forma tónica, con un efecto más mantenido y fisiológico.
5. La estructura que sufre este déficit neuroquímico (estriado) es fácilmente accesible por cirugía.

Bajo estos supuestos, a finales de la década de los años 70 se iniciaron los primeros trasplantes experimentales en modelos animales, y a partir de 1985 los primeros estudios clínicos en pacientes con EP. Hay que tener en cuenta, sin embargo, que los principios que sustentan la terapia celular no son tan concluyentes en la EP humana como en los modelos animales actuales: mientras que en estos modelos el daño neuronal es agudo o subagudo y afecta de forma más selectiva a las neuronas dopaminérgicas (Beal, 2001), la EP es en realidad un proceso progresivo, en el que se van afectando también otras poblaciones neuronales y sistemas neuroquímicos del sistema nervioso central y periférico (Braak y Braak, 2000; Braak *et al.*, 2003).

II.2.1.- Primeros estudios en modelos animales de EP.-

El objetivo de los primeros trasplantes experimentales fue reemplazar *in situ* el déficit dopaminérgico nigro-estriado (Björklund y Stenevi, 1979; Perlow *et al.*, 1979). En aquellos primeros años se trasplantaron distintas estirpes de células dopaminérgicas en ratas con lesión unilateral por 6-OHDA, siendo mejor estudiadas las células nigricas mesencefálicas (Björklund y Stenevi, 1979; Perlow *et al.*, 1979; Björklund *et al.*, 1980,

1981; Dunnett *et al.*, 1981) y las células cromafines de la médula adrenal (Freed *et al.*, 1981; Herrera-Marchitz *et al.*, 1984). En estos estudios se observó que las células implantadas podían sobrevivir, producir dopamina y mejorar los trastornos motores en este modelo experimental. Más tarde, estos hallazgos se reprodujeron en el modelo del primate tratado con MPTP, tanto con células mesencefálicas (Redmond *et al.*, 1986; Sladek *et al.*, 1987; Bakay *et al.*, 1987), como con médula adrenal (Bankiewicz *et al.*, 1988; Hansen *et al.*, 1988).

En éstos, y en subsiguientes estudios (Freund *et al.*, 1985; Strecker *et al.*, 1987; Dunnett *et al.*, 1988; Brundin *et al.*, 1989, Bankiewicz *et al.*, 1990), se demostró que la persistencia del beneficio motor se correlacionaba con la supervivencia e integración funcional del tejido implantado. En este sentido, al evaluar en el laboratorio la viabilidad de diferentes tejidos dopaminérgicos, los mejores resultados se obtuvieron con mesencéfalo fetal: los implantes sobreviven más tiempo, reinervan el estriado con un patrón organotópico y forman conexiones sinápticas, lo que se acompaña de recuperación funcional.

No obstante, también se estudiaron métodos que podían aumentar la supervivencia del tejido adrenal, como la infusión de factor de crecimiento nervioso (NGF) (Strömberg *et al.*, 1985) y, más tarde, se realizaron en animales co-trasplantes de médula adrenal con otros tejidos que pudieran aportar éste u otros factores neurotróficos, como células de glioma (Bing *et al.*, 1990), o fragmentos de nervio periférico (Kordower *et al.*, 1990; Watts *et al.*, 1995). Estas experiencias establecieron que los factores neurotróficos podían aumentar la viabilidad de las células implantadas, induciendo además la arborización (*sprouting*) de las fibras dopaminérgicas en el cerebro huésped. Estos y otros datos harían cambiar posteriormente los fundamentos de la terapia celular en la EP: su objetivo pasará a ser, no solo reemplazar *in situ* el déficit dopaminérgico, sino inducir, al menos parcialmente, la regeneración del sistema neuronal dañado.

II.2.2.- Trasplantes de médula adrenal.

Tras las primeras evidencias en modelos animales, a partir de 1985 se publicaron los primeros estudios clínicos en pacientes con EP utilizando médula adrenal autóloga (Backlund *et al.*, 1985; Lindvall *et al.*, 1987). La técnica utilizada por este grupo sueco

en cuatro pacientes fue, al igual que en la experimentación animal, la implantación estereotáctica unilateral en el estriado. Los resultados clínicos fueron modestos, pero suficientemente estimulantes para extender la investigación clínica a diversos países. En 1987 un grupo de Méjico publicó sus primeros resultados en dos pacientes (Madrazo *et al.*, 1987). La técnica utilizada era diferente: mediante cirugía abierta, implantaron unilateralmente fragmentos de médula adrenal en una cavidad creada en el núcleo caudado, en comunicación con el ventrículo lateral. Los resultados comunicados fueron espectaculares, confirmándose posteriormente en una serie de 42 pacientes (Madrazo *et al.*, 1990a). A partir de entonces los trasplantes de médula adrenal autóloga se extendieron por todo el mundo, sin embargo ningún grupo fue capaz de replicar estos excelentes resultados clínicos. En España, el primer trasplante a un paciente con EP se realizó en la Clínica Puerta de Hierro de Madrid en 1987 (revisado por López-Lozano *et al.*, 2000).

Técnicas.-

Las técnicas quirúrgicas utilizadas en los trasplantes de médula adrenal han sido diversas: mientras que numerosos grupos siguieron la técnica de cirugía abierta propuesta por Madrazo y colaboradores (Penn *et al.*, 1988; Kelly *et al.*, 1989; Jankovic *et al.*, 1989; Lieberman *et al.*, 1989; López-Lozano *et al.*, 1990); otros realizaron implantes de cantidades variables de tejido mediante cirugía estereotáctica en el putamen o en el caudado, más frecuentemente de forma unilateral (Lindvall *et al.*, 1987; Jiao *et al.*, 1989; Cahill y Olanow, 1990; Apuzzo *et al.*, 1990). La adrenalectomía previa se realizó por vía abdominal o, en algunos casos, por vía retroperitoneal (Apuzzo *et al.*, 1990; Goetz *et al.*, 1991); y se utilizaron distintas técnicas de perfusión y preparación del tejido (López-Lozano *et al.*, 1989). El grupo mejicano también realizó, en algunos pacientes, trasplantes de médula adrenal fetal (Madrazo *et al.*, 1990 a y b).

Eficacia clínica.-

Los resultados obtenidos son de difícil sistematización, teniendo en cuenta la variabilidad en la selección de los pacientes, en las técnicas quirúrgicas y en las evaluaciones clínicas. Todos los estudios publicados han sido abiertos, la mayoría con pocos pacientes (3-20) y sin grupo control. El seguimiento ha sido variable (6 meses - 2

años) y las evaluaciones no cegadas. En general, los resultados de cada centro son heterogéneos y se han expuesto de forma diversa, siendo habitual destacar la existencia de cambios en la duración y severidad de los periodos “off”. La proporción de pacientes que obtienen mejoría relevante es variable: al año de la intervención se ha comunicado buen resultado en 1 de 7 pacientes (Kelly *et al.*, 1989), en 4 de 12 (Allen *et al.*, 1989), y hasta en 4 de 8 pacientes intervenidos (Apuzzo *et al.*, 1990). En 19 pacientes operados en tres centros de EEUU y seguidos durante 18 meses se documentó una destacada disminución media del tiempo pasado en situación “off” y una modesta reducción media de los síntomas, que fue máxima a los 6-12 meses de la cirugía (Penn *et al.*, 1988; Goetz *et al.*, 1989, 1990; Cahill y Olanow, 1990). En 1991 se publicaron los resultados a los 2 años de seguimiento de 56 pacientes incluidos en el registro de trasplantes de la *United Parkinson Foundation*, intervenidos en distintos centros de EEUU y Canadá: el tiempo medio pasado en “off” se redujo desde el 50% de las horas diurnas hasta el 39%; sin embargo los cambios en el resto de escalas motoras y funcionales en situación “off”, aunque estadísticamente significativos, fueron todavía de menor magnitud (Goetz *et al.*, 1991).

En el citado registro norteamericano, y en otros estudios, la dosis de **medicación** no se redujo a largo plazo, pero otros autores consiguieron bajar la dosis de levodopa hasta en un 60% (López-Lozano *et al.*, 1990, 1991). Desde el punto de vista **neuropsicológico**, en un estudio se ha descrito mejoría de los trastornos cognitivos de tipo frontal en 7 pacientes a los 3 meses de la cirugía (Ostrosky-Solis *et al.*, 1988).

Complicaciones.-

En la mayoría de los estudios se ha documentado una alta morbi-mortalidad relacionada con la doble cirugía abdominal y craneal (Waxman *et al.*, 1991). En el registro norteamericano sobre 56 pacientes, se recogieron 6 fallecimientos y numerosas complicaciones neurológicas y cardio-pulmonares. La morbilidad fue menor en los casos intervenidos mediante cirugía retroperitoneal, así como en los que se realizó la implantación mediante estereotaxia (Goetz *et al.*, 1991).

Supervivencia e integración funcional del trasplante.-

Guttman y colaboradores estudiaron mediante PET con ^{18}F -dopa a 5 pacientes intervenidos unilateralmente en el caudado: a los 6 meses no se detectó de forma convincente mejoría funcional en el lado implantado (Guttman *et al.*, 1989). En estudios *post-mortem* realizados varios meses después del trasplante se ha encontrado la existencia de una cavidad necrótica con gliosis reactiva, pero las células cromafines implantadas eran muy escasas (Hurtig *et al.*, 1989; Waters *et al.*, 1990; Kordower *et al.*, 1991) o estaban ausentes (Jankovic *et al.*, 1989; Peterson *et al.*, 1989; Hirsch *et al.*, 1990; Forno y Langston, 1991). Hay que tener en cuenta, no obstante, que la mayoría de estos pacientes necropsiados habían tenido escaso beneficio clínico tras la intervención. Las tinciones inmunohistoquímicas para tirosina hidroxilasa (TH) han sido negativas, si bien en algún caso se ha descrito proliferación de fibras TH positivas rodeando la zona del implante (Hirsch *et al.*, 1990; Kordower *et al.*, 1991).

En definitiva, aunque se han comunicado mejorías en algunos pacientes, las evidencias clínicas y neuropatológicas sugieren, al igual que en los estudios de laboratorio, una baja supervivencia e integración funcional del tejido implantado. Por ello se han propuesto estrategias para mejorar la viabilidad de la médula adrenal, como se verá a continuación.

Variantes del trasplante de médula adrenal.-

Distintas evidencias experimentales demostraron que la supervivencia de la médula adrenal aumentaba si se añadían factores tróficos, bien de forma directa, o mediante el co-trasplante con otros tejidos que los aportaran (véase apartado II.2.1). También se han llevado a cabo estudios clínicos en este sentido.

Olson y colaboradores realizaron una **infusión intraestriatal de NGF** durante las semanas posteriores a un trasplante de médula adrenal en un paciente, documentándose al año una modesta mejoría (Olson *et al.*, 1991).

López-Lozano y colaboradores realizaron, mediante cirugía abierta en el núcleo caudado, **co-trasplantes de médula adrenal y nervio periférico intercostal** en 8 pacientes con EP avanzada, comunicando una mejoría media progresiva en la escala unificada para la EP (UPDRS) y en el tiempo “on”, que se mantenía más de 2 años después. Estos resultados fueron claramente mejores que los de un grupo de 4 pacientes

similares, que fueron sometidos a una caudotomía por radiocirugía y seguidos durante un año (López-Lozano *et al.*, 1999, 2000). Watts y colaboradores también realizaron co-trasplantes unilaterales de médula adrenal y nervio periférico, pero mediante estereotaxia: un grupo de 5 pacientes obtuvo mejoría sobre distintos aspectos motores a los 2 años de la cirugía (Watts *et al.*, 1997). El estudio necrópsico de un paciente sometido a este co-trasplante en Okayama (Japón) mostró numerosas células y fibras TH positivas en el lugar del implante 4 meses después (Date *et al.*, 1996).

Conclusiones.-

A pesar de que estos co-trasplantes podrían aportar mejores resultados, la realidad es que los trasplantes de médula adrenal han sido abandonados en la actualidad. A ello ha contribuido la inconsistencia de los resultados básicos y clínicos, su elevada morbi-mortalidad y el desarrollo de otras alternativas experimentales. De esta forma, las últimas recomendaciones basadas en la evidencia de la *American Academy of Neurology* (Hallett *et al.*, 1999) y de la *Movement Disorder Society* (Goetz *et al.*, 2002) desaconsejan continuar estos trasplantes en pacientes con EP.

II.2.3.- Trasplantes de mesencéfalo fetal humano.-

Basado en los mejores resultados obtenidos en modelos animales, Lindvall y colaboradores realizaron por primera vez trasplantes de mesencéfalo fetal humano mediante estereotaxia en 2 pacientes con EP (Lindvall *et al.*, 1989). Este grupo sueco publicó posteriormente nuevos trabajos basados en su serie inicial de 4 pacientes, documentando una mejoría progresiva que se inició a los 2-3 meses y continuó durante los 3 años de seguimiento (Lindvall *et al.*, 1990, 1992, 1994; Hoffer *et al.*, 1992). A partir de entonces, otros grupos comenzaron a realizar estos trasplantes en distintos países. El grupo de Madrazo en México realizó trasplantes mediante cirugía abierta en el núcleo caudado (Madrazo *et al.*, 1990 a y b), técnica que fue seguida por los grupos español y cubano (López-Lozano *et al.*, 1997, 2000). Por el contrario, otros grupos en EEUU y Francia siguieron la técnica estereotáctica empleada por el grupo sueco. Se estima que cientos de pacientes con EP han sido sometidos a este tipo de trasplante en el mundo, existiendo información en la literatura médica respecto a unos 50 (Goetz *et al.*, 2002).

Técnicas.-

Al analizar los estudios publicados, lo primero que llama la atención es la gran variabilidad en los procedimientos:

- El tejido donante se ha obtenido de embriones (< 8 semanas) o fetos (> 8 semanas), procedentes de abortos entre 5-17 semanas post-concepción. En estudios animales se ha determinado que la supervivencia e integración funcional se reduce considerablemente a partir de las 10 semanas de edad, por lo que la mayoría de grupos ha utilizado donantes de entre 6 y 9 semanas.
- La cantidad de tejido implantado es variable, y oscila entre 1 y 4 mesencéfalos fetales por hemisferio (hasta 8 donantes en casos de cirugía bilateral).
- Se han utilizado distintas técnicas de conservación y almacenamiento del tejido.
- El tipo de implante puede ser: fragmentos de tejido (de mayor o menor tamaño, incluso “hebras” de tejido) o agregados celulares (con mayor o menor dispersión).
- Como se ha dicho, algunos grupos han realizado trasplantes mediante cirugía abierta (en el núcleo caudado derecho); pero la mayoría de los grupos han utilizado cirugía estereotáctica (en uno o varios puntos del putamen, caudado o ambos; de forma unilateral o bilateral, en uno o dos tiempos).
- En muchos estudios se ha utilizado inmunosupresión previa y posterior, (habitualmente con ciclosporina), con intensidad y duración variable.

Eficacia clínica.-

Al igual que se comentó respecto a los trasplantes de médula adrenal, es difícil sistematizar los resultados clínicos de los distintos estudios debido a la variabilidad en la selección de los pacientes y en la metodología utilizada. No obstante, las evaluaciones clínicas son en general más homogéneas que en los estudios con médula adrenal: se han utilizado con mayor frecuencia escalas validadas como la UPDRS, y diversos grupos han seguido el protocolo CAPIT (Langston *et al.*, 1992). A continuación se revisarán aquellos trabajos de mayor calidad metodológica: en primer lugar los principales estudios abiertos, y en segundo lugar los dos recientes estudios controlados con placebo financiados por los Institutos Nacionales de Salud de EEUU.

a) Estudios abiertos.-

La metodología de los principales estudios abiertos se expone en la **tabla II.3**. Se trata de series reducidas de pacientes (2-13), generalmente con EP avanzada y complicaciones motoras. Un estudio incluye a 2 pacientes con parkinsonismo inducido por MPTP (Widner *et al.*, 1992). Con frecuencia varias publicaciones hacen referencia a la misma serie de pacientes (véanse referencias en la tabla). Solo un estudio ha utilizado un pequeño grupo control seguido con tratamiento médico (Spencer *et al.*, 1992); y otro estudio ha comparado de forma cegada los efectos de implantar distintas cantidades de tejido (Kopyov *et al.*, 1997). Los procedimientos quirúrgicos son diversos (véase tabla), con implantaciones uni o bilaterales. El seguimiento clínico en estos trabajos oscila entre un mínimo de 6 meses y un máximo de 5 años, y en la mayoría de ellos se han realizado PET con ^{18}F -dopa pre- y postquirúrgicos.

A pesar de la diferente metodología, en todos estos estudios se han documentado mejorías motoras de distinto grado en la mayoría de los pacientes. Sin embargo, es difícil realizar un resumen comparativo de los resultados debido a la heterogeneidad en la exposición de los datos. En todos ellos se destacan aquellas diferencias postquirúrgicas más marcadas, bien sea en una escala en situación “off” (motora y/o funcional), en la duración de los periodos “on” y “off” según el diario cumplimentado por los pacientes, o en pruebas cuantitativas de bradicinesia. Sin embargo, no es habitual hacer referencia a la relevancia clínica de estos cambios, ni al porcentaje de pacientes que alcanza un determinado nivel de beneficio tras la cirugía.

En general, los cambios posquirúrgicos más destacados han sido el aumento del tiempo en situación “on” y la mejoría de los síntomas en “off”, especialmente la rigidez y la bradicinesia. Las disquinesias “on” se han reducido en diversos estudios (Freeman *et al.*, 1995; Defer *et al.*, 1996; López-Lozano *et al.*, 1997; Kopyov *et al.*, 1997), aunque también se han incrementado en algunos pacientes (Freed *et al.*, 1990, 1992; Defer *et al.*, 1996) (Véase apartado “complicaciones”).

| Grupo: país (ciudad) | Publicaciones | n | Donantes | | Tipo implante / Técnica | Lugar del implante | Inmuno- supresión | Seguimiento clínico | PET ⁽¹⁾ | Necropsia ⁽²⁾ |
|-------------------------------------|--|------------------|------------------|-----------|------------------------------------|--|-----------------------|------------------------|---------------------|--------------------------|
| | | | n°/lado | edad | | | | | | |
| Suecia (Lund) | Lindvall <i>et al.</i> , 89 Hoffer <i>et al.</i> , 92 | 2 | 3-4 | 7-9 sem. | Células / Estereotaxia | C + P Unilateral | 6 meses | 18 meses | SI (-) | NO |
| " | Lindvall <i>et al.</i> , 90,92,94 Sawle <i>et al.</i> , 92 | 2 | 3-4 | 6-7 sem. | Células / Estereotaxia | P Unilateral | 6 meses | 3 años | SI (++) | NO |
| " | Widner <i>et al.</i> , 92 | 2 ⁽³⁾ | 3-4 | 6-8 sem. | Células / Estereotaxia | C + P Bilateral | 12 meses | 2 años | SI (++) | NO |
| EEUU (Denver) | Freed <i>et al.</i> , 90,92 | 7 | 1 | 7-8 sem. | Células o "hebras" Estereotaxia | C + P Unilateral (2) P Bilateral (5) | 6 meses (4) NO (3) | 4 años | SI (+)(1) (-)(6) | NO |
| EEUU (New Haven) | Spencer <i>et al.</i> , 92 | 4 | 1 | 7-11 sem. | Tejido / Estereotaxia | C Unilateral | 6 meses | 18 meses | SI (+)(1) | SI (+/-)(1) |
| EEUU (Tampa / Nueva York / Chicago) | Freeman <i>et al.</i> , 95 Kordower <i>et al.</i> , 95, 98 Hauser <i>et al.</i> , 99 | 6 | 3-4 | 6-9 sem. | Tejido / Estereotaxia | P Bilateral (6-8 trayectos/lado) | 6 meses | 2 años | SI (++) | SI (+++)(2) |
| Francia (Créteil) | Peschansky <i>et al.</i> , 94 Remy <i>et al.</i> , 95 Defer <i>et al.</i> , 96 | 5 | 2-3 | 6-9 sem. | Células / Estereotaxia | C + P Unilateral (4) P Unilateral (1) | 6 meses | 1-3 años | SI (++) | NO |
| España (Madrid) | López-Lozano <i>et al.</i> , 97 | 10 | 1 | 6-15 sem. | Tejido / Cirugía abierta | C Unilateral | Crónica | 5 años | NO | NO |
| EEUU (L. Angeles) | Kopyov <i>et al.</i> , 97 | 13 | 1 (6) ≥ 2 (7) | 6-9 sem. | Tejido / Estereotaxia | P Bilateral | 18 meses | 6 meses | SI | NO |

Tabla II.3.- Metodología de los principales estudios abiertos sobre trasplante de mesencéfalo fetal humano (véanse resultados clínicos en el texto).

Abreviaturas.- C: caudado. P: putamen. El número entre paréntesis detrás de algunos datos indica el nº de pacientes al que hace referencia dicho dato.

⁽¹⁾ **PET con ¹⁸F-dopa.-** SI: cuando se ha realizado al menos a algunos de los pacientes; (-): sin cambios significativos; (+) o (++): menor o mayor incremento en la captación.

⁽²⁾ **Necropsia.-** SI: cuando se ha realizado a algún paciente; (+/-) o (+++): dudosa o importante supervivencia e integración del implante (rango de 0 a 3).

⁽³⁾ Dos pacientes con parkinsonismo inducido por MPTP.

La latencia para el inicio de la mejoría es variable (desde inmediatamente hasta 3-6 meses después) y alcanza su máximo entre 6 meses y 2 años. Posteriormente es probable que exista un empeoramiento progresivo en muchos pacientes, aunque en otros se ha descrito persistencia de la mejoría hasta 5 años (López-Lozano *et al.*, 1997), e incluso 10 años después (Piccini *et al.*, 1999). En el grupo de Denver, los 3 pacientes intervenidos sin utilizar inmunosupresión mejoraron de forma comparable al resto (Freed *et al.*, 1990, 1992). Es de destacar que 2 pacientes con parkinsonismo inducido por MPTP tuvieron un importante beneficio, que se inició a los 3-4 meses y siguió progresando después (Widner *et al.*, 1992).

Merecen un comentario aparte dos estudios que han utilizado una metodología analítica, al comparar dos grupos de pacientes con asignación aleatoria:

- Spencer y colaboradores no encuentran diferencias relevantes al año entre 4 pacientes trasplantados unilateralmente en el caudado y 3 controles similares seguidos con tratamiento médico (Spencer *et al.*, 1992).
- Kopyov y colaboradores intervinieron a 13 pacientes mediante implantes bilaterales en el putamen, siendo asignados a recibir una menor o mayor cantidad de tejido. A los 6 meses se evaluó la mejoría motora de forma cegada, y fue mayor en el grupo que había recibido más tejido (3 o más donantes) (Kopyov *et al.*, 1997).

Con respecto a la **medicación**, en algunos centros han conseguido reducir la dosis de levodopa en un porcentaje variable. El grupo sueco suprimió la levodopa en 2 pacientes durante años (Lindvall *et al.*, 1994). Otros grupos han logrado reducciones medias del 39% (Freed *et al.*, 1990,1992), e incluso del 60% a los 5 años (López-Lozano *et al.*, 1997).

En la serie de la Universidad de Yale (New Haven, EEUU) (Spencer *et al.*, 1992) se ha estudiado la evolución de las **funciones neuropsicológicas** en comparación con un grupo control: no encontraron diferencias en distintos aspectos cognitivos, salvo en la memoria verbal, que mejoró significativamente en los pacientes trasplantados durante los 2 primeros años tras la cirugía (Sass *et al.*, 1995). En la misma serie se encontró una tendencia no significativa a la depresión y a otros problemas emocionales en estos pacientes (Price *et al.*, 1995). El grupo de Créteil (Francia) no encontró diferencias significativas en el estudio neuropsicológico de 5 pacientes, aunque existió una marcada variabilidad individual (Leroy *et al.*, 1996).

b) Estudios “doble-ciego” comparados con cirugía placebo.-

Se han realizado dos estudios con estas características, financiados por los Institutos Nacionales de Salud de EEUU. La oportunidad de realizar estos estudios ha sido ampliamente debatida. Por una parte se ha argumentado que, al tratarse de un procedimiento experimental sujeto a numerosas variables metodológicas aún no resueltas, sería inadecuado realizar de forma prematura un ensayo clínico controlado (en fase III) (Antman *et al.*, 2001; Dunnet *et al.*, 2001). De esta forma, se podría acabar con el potencial futuro de esta terapia, puesto que todavía sería posible optimizar la técnica en el laboratorio y en pequeños ensayos clínicos en fase II (sería equivalente a realizar un ensayo clínico controlado con un fármaco cuya posología no hubiera sido previamente establecida). Asimismo, han sido muy discutidos los aspectos éticos de realizar un procedimiento quirúrgico falso para comprobar el efecto placebo (Freeman *et al.*, 1999; Macklin, 1999). Por otro lado, los trasplantes de mesencéfalo fetal se continuaban realizando en diversos centros del mundo desde 1989, en muchos casos sin avanzar más en la identificación de las variables metodológicas más idóneas, y sin una adecuada evaluación de su impacto real sobre la salud. Además, los problemas prácticos y ético-legales relacionados con la obtención de tejido fetal suponían un obstáculo para el desarrollo futuro de esta terapia.

En este contexto se diseñaron dos estudios con los que se cubrían las variables técnicas más habituales en centros de EEUU, intentando evaluar los efectos biológicos del trasplante pero, fundamentalmente, su eficacia sintomática real en pacientes con EP avanzada. En la **tabla II.4** se resumen las principales características metodológicas de estos estudios. El primero de ellos (Freed *et al.*, 2001) no utiliza inmunosupresión, y pretende comparar la eficacia en distintos grupos de edad. El diseño del segundo (Olanow *et al.*, 2003) permite evaluar los efectos de implantar distintas cantidades de tejido. Los pacientes asignados aleatoriamente al grupo placebo fueron intervenidos únicamente mediante perforación del cráneo sin penetrar la duramadre, con el desconocimiento del paciente y de los médicos evaluadores. En el segundo estudio, todos los pacientes (trasplantados y del grupo placebo) fueron tratados con ciclosporina durante 6 meses. La medicación antiparkinsoniana se trató de mantener estable en ambos estudios, permitiéndose los ajustes necesarios en caso de empeoramiento o efectos adversos.

| ESTUDIOS CONTROLADOS CON PLACEBO | 1° | 2° |
|-------------------------------------|---|---|
| I.Ps. (Centro y ciudad): | Curt R.Freed (U. de Denver) Paul E. Green (U. de Columbia, N. York) Stanley Fahn (U. de Columbia, N. York) | C. W. Olanow (Mount Sinai, N. York) C. G. Goetz (Rush Presbyterian, Chicago) T. B. Freeman (U. South Florida, Tampa) |
| Publicación: | Freed et al. (N. Engl. J. Med., 2001) | Olanow et al. (Ann. Neurol., 2003) |
| Pacientes reclutados: | Trasplante: 20 (≤ 60 años: 10; > 60: 10) Cirugía placebo: 20 (≤ 60 años: 11; > 60: 9) | Trasplante: 23 (1 donante: 11; 4 donantes:12) Cirugía placebo: 11 |
| Seguimiento: | 1 año | 2 años |
| Pérdidas de seguimiento: | 1 (grupo trasplante) | 3 (no se especifica el grupo) |
| Variable principal: | Valoración subjetiva del paciente (de - 3 hasta +3) | Cambio en la escala UPDRS III |
| Donantes | | |
| - Número por lado: | 2 | 1 (11 pacientes); 4 (12 pacientes) |
| - Edad: | 7 - 8 semanas | 6 - 9 semanas |
| Tipo de implante: | Hebras de tejido cultivado hasta 4 semanas | Fragmentos de tejido conservado en frío hasta 2 días |
| Tipo cirugía: | Estereotaxia (bilateral en un tiempo) 2 orificios de berbiquí por lado | Estereotaxia (bilateral en dos tiempos) 1 orificio de trépano por lado |
| Lugar del implante: | Putamen bilateral (4 trayectos por lado; depósito continuo por trayecto) | Putamen posterior bilateral (8 trayectos por lado; 4 depósitos por trayecto) |
| Inmunosupresión: | NO | Ciclosporina durante 6 meses |
| PET con ¹⁸F-dopa: | Previo y al año de la cirugía: - aumento medio de captación (- en 3) - diferencia respecto a placebo - no diferencia en ≤ 60 y > 60 años | Previo, al año y 2 años de la cirugía: - aumento medio de captación - diferencia respecto a placebo - tendencia a ser mayor con 4 donantes |
| Necropsia ⁽¹⁾: | 2 pacientes (> 60 años): ++ | 2 pacientes (1 donante/lado): ++ 2 pacientes (4 donantes/lado): +++ |

Tabla II.4.- Metodología de los estudios sobre trasplante de mesencéfalo fetal humano utilizando un grupo control con cirugía placebo (véanse resultados clínicos en el texto).

Abreviaturas.- I.Ps.: Investigadores principales; U.: Universidad; UPDRS III: subescala III (motora) de la Escala Unificada para la Enfermedad de Parkinson.

⁽¹⁾ **Necropsia.-** (++) o (+++): moderado o importante grado de supervivencia e integración del implante (rango de 0 a 3).

Los resultados clínicos en cuanto a eficacia pueden resumirse como sigue:

- 1^{er} estudio (Freed *et al.*, 2001).- Al año de la cirugía no existían diferencias significativas en ambos grupos en cuanto a la valoración subjetiva de los pacientes. En los pacientes trasplantados, la escala UPDRS III en “off” mejoró significativamente respecto a placebo (una media del 18%), a expensas de los pacientes de ≤ 60 años, que mejoraron una media del 34%. Igual comportamiento tuvo la escala funcional de Schwab y England. Los síntomas que más mejoraron fueron la rigidez y la bradicinesia. La mejoría se inició en los 4 primeros meses y se mantenía en la evaluación abierta realizada a los 3 años de seguimiento. En análisis posteriores se ha visto que el principal predictor de la mejoría clínica podría ser en realidad la respuesta a la levodopa en lugar de la edad (Freed *et al.*, 2003). El análisis cuantitativo de la función motora (tiempos de reacción y de movimiento) también mejoró significativamente respecto a placebo (Gordon *et al.*, 2004). No hubo cambios significativos en los diarios de fluctuaciones ni en la dosis de medicación. La evolución del rendimiento cognitivo fue similar en el grupo trasplantado y en el grupo placebo, tanto en la muestra completa, como en ambos subgrupos de edad (Trott *et al.*, 2003).

- 2^o estudio (Olanow *et al.*, 2003).- A los 2 años de la cirugía no existían diferencias estadísticamente significativas en la escala UPDRS III en “off” entre los pacientes trasplantados y el grupo placebo, aunque sí se apreció una tendencia a la mejoría, proporcional a la cantidad de tejido trasplantado. Sin embargo, los pacientes menos afectados basalmente (UPDRS III ≤ 49) que recibieron más tejido (4 donantes por cada estriado) sí mantenían una mejoría significativa respecto a placebo a los 2 años. En este grupo, la reducción (mejoría) en esta escala se inició en los 3 primeros meses, fue máxima entre 6 meses y un año ($\approx 20\%$), y comenzó a perderse progresivamente a partir de entonces. No hubo cambios significativos en los diarios de fluctuaciones ni en la dosis de medicación.

Complicaciones.-

Todos los estudios sobre trasplante de mesencéfalo fetal humano destacan que es un procedimiento por lo general bien tolerado. No obstante, se han descrito complicaciones potencialmente serias, como hemorragias intracraneales (Freeman *et al.*, 1995; Hauser *et al.*, 1999; Kopyov *et al.*, 1997; Freed *et al.*, 2001), que con frecuencia se resolvieron sin secuelas. Otros pacientes han presentado crisis parciales (Spencer *et al.*, 1992), o cuadros confusionales postquirúrgicos (López-Lozano *et al.*, 1997; Freed *et al.*, 2001; Olanow *et al.*, 2003). Se ha descrito el caso de un paciente que falleció tras desarrollar una hidrocefalia obstructiva por migración del tejido implantado al cuarto ventrículo; el estudio post-mortem reveló que se trataba de un material compuesto de hueso, cartílago, pelo y epitelio escamoso (Folkerth y Durso, 1996). Este caso, sin embargo, está claramente relacionado con una incorrecta identificación y disección del tejido trasplantado. El tratamiento inmunosupresor se ha asociado en algunos pacientes con afectación renal (Lindvall *et al.*, 1994; Freeman *et al.*, 1995; Hauser *et al.*, 1999), o infecciones oportunistas (López-Lozano *et al.*, 1997), sobre todo cuando se ha mantenido a largo plazo.

Los dos estudios controlados con placebo han puesto en evidencia un efecto adverso de reciente descripción: la aparición de **disquinesias en “off”**, es decir, en los periodos sin efecto de la medicación. Consisten en movimientos estereotipados en los miembros inferiores, semiológicamente similares a las denominadas disquinesias bifásicas (que aparecen al principio y/o al final del efecto de la levodopa). En el estudio de Denver/Nueva York aparecieron en el 15% de los pacientes trasplantados tras 3 años de seguimiento; todos ellos eran ≤ 60 años y habían mejorado clínicamente (Freed *et al.*, 2001). En el estudio de Tampa/Nueva York/Chicago aparecieron hasta en el 56% a los 2 años; se iniciaron a los 6-12 meses y llegaron a ser severas en 3 pacientes (Olanow *et al.*, 2003). En este último estudio, no encontraron correlación entre la aparición de estas disquinesias y la puntuación en la escala UPDRS, la cantidad de tejido implantado, o la captación estriatal de ^{18}F -dopa. Curiosamente, las disquinesias en los periodos “on” no habían empeorado en estos pacientes, ni estaban tomando una mayor dosis de medicación. En estudios previos se había descrito el empeoramiento de las disquinesias “on” en algunos pacientes (Freed *et al.*, 1990, 1992; Defer *et al.*, 1996), sin embargo no se había comunicado la aparición de este nuevo tipo de disquinesias durante los

periodos “off”. El grupo sueco publicó en 2002 una revisión retrospectiva de su serie de 14 pacientes, reconociendo que esta complicación había aparecido en la mayoría de ellos, pero con leve o moderada intensidad (mediana = 4 puntos [rango 0-28]) (Hagell *et al.*, 2002). Parece ser que fueron más severas en aquellos pacientes que se trasplantaron en una fase más avanzada de la enfermedad y que presentaban más disquinesias en “on”. Por otro lado, no encontraron correlación entre la intensidad de las disquinesias “off” y la mejoría de los pacientes tras el trasplante, ni desde el punto de vista clínico ni en la captación estriatal de ^{18}F -dopa.

Se han propuesto distintas hipótesis para explicar el origen de estas disquinesias en situación “off”. Se ha planteado que pudieran deberse a un exceso de dopamina global producido por el trasplante (Freed *et al.*, 2001), sin embargo parece improbable teniendo en cuenta la falta de correlación con la cantidad de tejido trasplantado, la clínica de los pacientes y la captación de ^{18}F -dopa (Hagell *et al.*, 2002; Olanow *et al.*, 2003). Ma y colaboradores sugieren, en un estudio con PET, que podría existir aumento de dopamina solo en regiones críticas del estriado (Ma *et al.*, 2002), pero este hallazgo no ha sido confirmado en otros estudios (Olanow *et al.*, 2003). La similitud semiológica con las disquinesias bifásicas (que se asocian con bajos niveles de dopamina estriatal), hace pensar que en estos pacientes se podría haber producido una reinervación anómala del estriado, de tal forma que las células implantadas producirían dopamina de forma continua, pero con una baja concentración. Estos bajos niveles serían insuficientes para mejorar los síntomas, pero capaces de desencadenar estos movimientos involuntarios (Olanow *et al.*, 2003).

Supervivencia e integración funcional del trasplante.-

a) Neuroimagen funcional.-

En las principales series sobre trasplantes de mesencéfalo fetal se han realizado estudios seriados mediante PET con ^{18}F -dopa, habiéndose descrito con frecuencia un incremento progresivo de la captación en el área del trasplante, junto con disminución progresiva en áreas del estriado no trasplantadas. En los estudios abiertos, la exposición de estos datos es heterogénea: en unos se hace referencia a pacientes individuales, y en otros a cambios medios en un grupo de pacientes (véanse reseñas en **tabla II.3**). Así, el grupo sueco no encontró cambios en sus 2 primeros pacientes (Lindvall *et al.*, 1989;

Hoffer *et al.*, 1992), pero sí en los 2 siguientes (Sawle *et al.*, 1992); y también en otros 2 pacientes con parkinsonismo inducido por MPTP a partir del año del trasplante (Widner *et al.*, 1992). Posteriormente, este grupo ha comunicado un incremento en la captación de ^{18}F -dopa en otros 4 pacientes al año de seguimiento (Wenning *et al.*, 1997), así como la persistencia de mejoría hasta 10 años después de un trasplante unilateral en 2 pacientes (Wenning *et al.*, 1997; Piccini *et al.*, 1999). En uno de ellos, se ha demostrado la existencia de liberación sináptica de dopamina en el lugar del implante mediante PET con ^{11}C -raclopride y administración de amfetamina (Piccini *et al.*, 1999). Este hecho sugiere que se puede mantener a largo plazo la función dopaminérgica del trasplante, tanto basal como inducida farmacológicamente (Barker y Dunnett, 1999). En otros estudios abiertos se han comunicado asimismo pacientes individuales con resultados positivos a largo plazo (Freed *et al.*, 1992; Spencer *et al.*, 1992). Los 6 pacientes iniciales del grupo de Tampa (EEUU) experimentaron un incremento en la captación de ^{18}F -dopa a los 6 meses, que continuaba 1-2 años tras el trasplante, alcanzando incluso niveles normales en algunos de ellos. Estos hallazgos se correlacionaron con la mejoría clínica (Hauser *et al.*, 1999). Igualmente, el grupo de Créteil (Francia) encontró aumento progresivo de captación en el lado trasplantado en 5 pacientes, que se correlacionó con el tiempo en situación “on” y con el rendimiento en pruebas cuantitativas de bradicinesia en el miembro superior contralateral (Remy *et al.*, 1995).

Los dos recientes estudios controlados con placebo (véase **tabla II.4**) también han demostrado incremento medio en la captación putaminal de ^{18}F -dopa al año del trasplante (Freed *et al.*, 2001; Olanow *et al.*, 2003), con mínimo incremento posterior durante el segundo año (Olanow *et al.*, 2003). Estos cambios medios fueron significativamente diferentes respecto al grupo placebo en ambos estudios. En el primer estudio, el incremento medio de captación fue del 40% al año, y la valoración visual de los PET por un observador “cegado” fue negativa en solo 3 de 19 pacientes trasplantados (Freed *et al.*, 2001). En este estudio, el incremento medio en la captación de ^{18}F -dopa fue similar en los pacientes de ≤ 60 años y los de > 60 años y solo existió correlación clínica en el grupo más joven. En el segundo estudio, aquellos pacientes trasplantados con más tejido (4 donantes por putamen) tuvieron una mayor captación de ^{18}F -dopa a los 2 años respecto a los trasplantados con menos tejido (1 donante por

putamen). Si bien esta tendencia no alcanzó significación estadística, es concordante con los resultados desde el punto de vista clínico (Olanow *et al.*, 2003).

En resumen, los hallazgos en el PET sugieren que las células implantadas pueden restaurar a medio y largo plazo la función dopaminérgica estriatal, alcanzando generalmente entre el 48-68% de los valores normales en la captación de ^{18}F -dopa. La persistencia de este efecto neuroquímico hasta 10 años después podría hacer pensar que estas células no se ven afectadas por el proceso de la enfermedad (Dunnet *et al.*, 2001).

b) Estudios *post-mortem*.-

Se conocen los estudios neuropatológicos de algunos pacientes que fueron seguidos en varios estudios abiertos y en los dos estudios controlados con cirugía placebo (véanse reseñas en **tablas II.3 y II.4**). Uno de los pacientes de la serie inicial de la Universidad de Yale (New Haven, EEUU) falleció a los 4 meses del trasplante y la necropsia fue compatible con degeneración estrio-nigric, sin encontrar una clara supervivencia del tejido implantado (Spencer *et al.*, 1992).

La primera evidencia de supervivencia e integración funcional del trasplante se obtuvo del estudio necrópsico de 2 pacientes de la serie inicial del grupo de Tampa (EEUU), que fallecieron a los 18 y 19 meses del trasplante (Freeman *et al.*, 1995). Estos estudios mostraron la presencia de abundantes células dopaminérgicas de aspecto sano (aproximadamente 100.000 en cada lado), que reinervaban extensamente el putamen siguiendo un patrón organotópico, similar al sistema nigro-estriado en desarrollo (Kordower *et al.*, 1995). La expresión de TH (cuantificada por su ARNm) y la actividad de citocromo-c oxidasa indicaban que estas células tenían una adecuada actividad metabólica. Los estudios ultraestructurales demostraron conexiones sinápticas normales entre las células implantadas y las del estriado huésped. No hubo evidencia de rechazo (el tratamiento inmunosupresor se mantuvo solo los 6 primeros meses), ni tampoco de arborización (*sprouting*) de las fibras del huésped (Kordower *et al.*, 1996, 1998). En estos pacientes fue posible documentar la correlación de estos hallazgos con los cambios clínicos y del PET (Hauser *et al.*, 1999).

Este mismo grupo llevó a cabo posteriormente el segundo de los estudios controlados con cirugía placebo, con similar metodología quirúrgica (Olanow *et al.*, 2003). Las necropsias de 2 pacientes que recibieron tejido de 4 donantes por cada

hemisferio mostraron hallazgos similares a los reseñados. Sin embargo, en los estudios *post-mortem* de otros 2 pacientes que fueron trasplantados con un donante por cada hemisferio se halló una menor celularidad (aproximadamente 30.000 por lado), aunque también existía abundante reinervación TH positiva en la región trasplantada. Estos resultados están en consonancia con los datos clínicos y de neuroimagen funcional de este estudio. La tinción inmunohistoquímica para CD45 (marcador de microglía y respuesta inmune) estaba aumentada en la región del trasplante, sugiriendo la posibilidad de rechazo parcial.

En el estudio controlado de Denver/Nueva York se estudiaron 2 pacientes del grupo > 60 años, fallecidos a los 7 meses y 3 años del trasplante. En el primero, la supervivencia estaba entre 11.000-20.000 células por implante (correspondiente al tejido de un donante), y la inervación se extendía unos 2-3 mm desde los cuerpos celulares. En el segundo paciente la supervivencia fue similar en uno de los hemisferios, pero menor en el otro (2.000-5.000 células), mientras que la reinervación se extendía por todo el putamen. Este paciente tuvo un incremento del 100% en la captación de ¹⁸F-dopa a los 2 años del trasplante, y una mejoría clínica del 33% en la escala UPDRS poco antes de su fallecimiento, lo que también apoya la existencia de correlación entre la clínica, el PET y la integración del implante. La tinción inmunohistoquímica para CD3 reveló en ambos pacientes algunas células inflamatorias, sin clara relación con el grado de supervivencia celular en cada implante (en este estudio no se utilizó inmunosupresión).

Métodos para optimizar los trasplantes.-

Si consideramos que cada mesencéfalo fetal puede tener alrededor de 500.000 neuronas, podemos deducir de los estudios *post-mortem* que la supervivencia a largo plazo del tejido implantado estaría en torno al 5%. En los estudios de laboratorio este porcentaje es similar (Brundin *et al.*, 1988), ocurriendo la muerte masiva de neuronas en la primera semana tras el trasplante (Emgård *et al.*, 1999). Por ello, se han ensayado en el laboratorio distintas estrategias que pudieran incrementar la viabilidad de las células fetales, como su exposición a factores neurotróficos (Mayer *et al.*, 1993; Rosenbland *et al.*, 1996; Yurek, 1998), a sustancias antioxidantes (Nakao *et al.*, 1994; Björklund *et al.*, 1997), o a agentes anti-apoptóticos, como los inhibidores de caspasa (Schierle *et al.*,

1999). Tras el trasplante, el tratamiento oral con ligandos de inmunofilinas también puede incrementar el crecimiento neurítico en la rata (Costantini y Isacson, 2000).

El grupo sueco ha realizado **trasplantes de tejido mesencefálico fetal tratado con lazaroides** en 5 pacientes con EP (Brundin *et al.*, 2000). Utilizaron mesilato de tirilazad, un inhibidor de la peroxidación lipídica con efecto antioxidante, que dobla la supervivencia de las células mesencefálicas tanto *in vitro* como *in vivo* en la rata (Nakao *et al.*, 1994; Björklund *et al.*, 1997). A los 18 meses de seguimiento, los pacientes tuvieron una mejoría clínica y en el PET comparable a otros pacientes intervenidos por este grupo (Lindvall *et al.*, 1990, 1992, 1994), pese a haber utilizado una menor cantidad de tejido.

El grupo de Halifax (Canadá) ha intervenido a 2 pacientes con **tejido mesencefálico fetal expuesto a GDNF**, habiendo documentado mejoría clínica y en la captación de ^{18}F -dopa al año de la intervención (Mendez *et al.*, 2000). Sin embargo, probablemente la utilidad de este método radica más en la conservación y mejora del tejido previo a la implantación (Hebb *et al.*, 2003), que en la posibilidad de producir efectos biológicos sobre el huésped.

También se ha realizado en un paciente un **trasplante mixto de tejido mesencefálico y estriatal fetal** en un putamen, mientras que solo se implantó tejido mesencefálico en el putamen contralateral. Se ha comunicado una mejoría clínica progresiva y aumento de captación de ^{18}F -dopa a los 21 meses, mayor en el lado trasplantado con ambos tejidos (Lee *et al.*, 2003).

En pacientes con EP, una de las consideraciones más importantes respecto a la supervivencia de los trasplantes heterólogos ha sido la posibilidad de rechazo y la necesidad de **tratamiento inmunosupresor**. El grupo de Denver considera que probablemente no sea necesario, al no haber encontrado evidencia de rechazo en estudios experimentales (Ansari *et al.*, 1995), ni existir grandes diferencias clínicas entre los pacientes de su primera serie que fueron tratados o no con inmunosupresores (Freed *et al.*, 1990, 1992). En el estudio “doble-ciego” realizado por este grupo no se utilizó inmunosupresión y, aunque en estudios necrópsicos se encontraron células inflamatorias junto al implante, no parece que guardaran clara relación con la supervivencia celular (Freed *et al.*, 2001). Por los datos que se aportan, se estima que la supervivencia del tejido implantado podría ser de un 4% en este estudio. Por el

contrario, el grupo de Tampa/Nueva York/Chicago considera que la inmunosupresión a largo plazo podría aumentar la supervivencia y los efectos clínicos del trasplante (Olanow *et al.*, 2003). Para ello se basan en el empeoramiento progresivo de los pacientes coincidiendo con la supresión del tratamiento a los 6 meses de la cirugía, y la presencia de marcadores de respuesta inmune en los estudios *post-mortem*. Han planteado incluso que las disquinesias en “off” pudieran estar relacionadas con una reinervación anómala del estriado debida a rechazo parcial. Este grupo ha implantado una mayor densidad de tejido (hasta 4 mesencéfalos en la región posterior de cada putamen) y la supervivencia estimada ha sido del 6%. Es posible que la inmunosupresión sea tanto más necesaria cuanto mayor sea la cantidad de tejido trasplantado, y especialmente en la intervenciones realizadas mediante cirugía abierta (López-Lozano *et al.*, 2000).

Otra estrategia para optimizar los trasplantes de mesencéfalo fetal ha sido el denominado “doble injerto” o **trasplante simultáneo en el estriado y en la sustancia negra**. Estudios realizados en ratas (Mendez *et al.*, 1996; Baker *et al.*, 2000), y en primates tratados con MPTP (Starr *et al.*, 1999; Collier *et al.*, 2002), habían demostrado que los trasplantes intranigricos podían reinervar también esta estructura, produciendo una recuperación funcional más completa. El grupo de Halifax (Canadá) ha realizado esta técnica en 3 pacientes con EP (Mendez *et al.*, 2002), habiendo comunicado mejoría clínica y en la captación de ^{18}F -dopa en 2 de ellos a los 13 meses de seguimiento. En cualquier caso, aunque trasplantar en la sustancia negra resulta atractivo desde el punto de vista teórico, no existen evidencias de que las células implantadas sean capaces de reinervar otras estructuras diana de una forma fisiológica.

Conclusiones.-

Los dos recientes estudios controlados con cirugía placebo han demostrado que los trasplantes de mesencéfalo fetal humano, realizados con las técnicas más habituales, no modifican sustancialmente la situación clínica global de los pacientes con EP avanzada a medio-largo plazo, y se asocian con la aparición de disquinesias en situación “off” en una alta proporción. Si a estos hechos se añaden las limitaciones para la obtención de suficiente tejido fetal humano y los problemas ético-legales relacionados,

difícilmente este procedimiento podrá llegar a ser en el futuro un tratamiento apropiado para esta enfermedad.

Sin embargo, sería erróneo interpretar que los trasplantes de mesencéfalo fetal no tienen efectos distintos al “efecto placebo” (Isacson *et al.*, 2001; Dunnet *et al.*, 2001; Freed *et al.*, 2003). Muy al contrario, precisamente estos estudios controlados han confirmado que tienen claros efectos biológicos y clínicos:

1. El tejido implantado es capaz de sobrevivir y reinervar el estriado de forma progresiva, estableciendo conexiones funcionalmente activas a largo plazo que restablecen parcialmente el déficit dopaminérgico estriatal. Este efecto será mayor en función de la cantidad de células trasplantadas, considerando una supervivencia a largo plazo de aproximadamente un 5%. La integración del injerto parece ser independiente de otros factores relacionados con el huésped, como su edad.
2. La supervivencia e integración funcional se acompaña en algunos pacientes de efectos clínicos sobre las manifestaciones de la enfermedad, no debidos al “efecto placebo” ni al “sesgo del evaluador”. Esta repercusión clínica depende en gran medida del huésped, siendo mayor en los pacientes ≤ 60 años, con una mayor respuesta a levodopa y/o menor severidad de la enfermedad. En el mejor de los casos, la reducción de los síntomas en situación “off” puede mantenerse varios años; sin embargo no es muy importante (no es mayor que la mitad del efecto de una dosis adecuada de levodopa), y tiende a perderse progresivamente a partir del año de la cirugía. Hasta un 56% de los pacientes con EP avanzada desarrolla en los 2 años siguientes disquinesias persistentes en situación “off”, probablemente relacionadas con la restauración no fisiológica de la función dopaminérgica estriatal.

Es posible que los resultados del trasplante de mesencéfalo fetal humano se puedan optimizar si se intervienen pacientes más jóvenes y/o menos afectados, si se determina la localización más idónea, si se utiliza una mayor cantidad de tejido, o si se incrementa por diversos medios la supervivencia celular (véase apartado anterior). Sin embargo, la cantidad de neuronas funcionalmente activas no parece ser el principal problema de estos trasplantes en la actualidad. De hecho, aunque la proporción de células que sobreviven a largo plazo es pequeña en relación con las implantadas ($\approx 5\%$), esta cantidad (≈ 100.000) parece suficiente para reinervar una gran parte del putamen y

restaurar cuantitativamente la función dopaminérgica estriatal. El problema radica en que estos trasplantes se muestran incapaces de restaurar esta función cualitativamente, es decir, de una forma fisiológica, teniendo en cuenta especialmente que existe una degeneración progresiva del sistema nigro-estriado.

Hasta el momento, no se han hallado evidencias de que estos trasplantes ejerzan una acción trófica sobre el cerebro huésped (Lindvall *et al.*, 1994; Kordower *et al.*; 1995). En tal caso, aunque los pacientes más jóvenes o menos afectados puedan tener cierta mejoría tras el trasplante, no sería esperable una modificación sustancial sobre la evolución progresiva de la enfermedad.

II.2.4.- Trasplantes de otras estirpes celulares.-

Debido a las limitaciones relacionadas con la obtención de tejido fetal humano, y los problemas ético-legales relacionados, se han seguido investigando otras fuentes de células dopaminérgicas que pudieran ser utilizadas para trasplantes en la EP. Algunas de ellas han pasado a la investigación clínica, como las células mesencefálicas embrionarias de origen porcino, las células retinianas microencapsuladas, las células del ganglio cervical superior y las células del CC (estas últimas son objeto de esta tesis y se revisarán en el apartado II.4).

Trasplante de mesencéfalo embrionario porcino.-

Los trasplantes entre especies (xenotrasplantes) podrían suponer una solución a los problemas de disponibilidad de tejidos y órganos. En modelos animales de EP, las células del mesencéfalo ventral del cerdo en desarrollo son capaces de sobrevivir en el estriado y corregir los déficits motores (Freeman *et al.*, 1988; Isacson *et al.*, 1995; Galpern *et al.*, 1996).

Schumacher y colaboradores han llevado a cabo un estudio abierto en 12 pacientes con EP avanzada, mediante la implantación unilateral en caudado y putamen de células en suspensión procedentes de embriones porcinos de 25-28 días (aproximadamente 12 millones de células por paciente) (Schumacher *et al.*, 2000). Seis pacientes siguieron tratamiento inmunosupresor con ciclosporina oral a bajas dosis, mientras que los otros 6 recibieron células tratadas con un anticuerpo monoclonal contra el antígeno principal de histocompatibilidad de clase I. Al año de seguimiento (n = 10),

los autores destacan una mejoría media estadísticamente significativa en la escala UPDRS total en situación “off” (19%), a expensas de la subescala II, que mide subjetivamente las actividades cotidianas. Sin embargo, en el análisis de los resultados individuales, 2 pacientes no mejoraron, y solo 3 pacientes tuvieron una reducción de la UPDRS total > 30% (34-51%). Estos últimos también tuvieron mejoría en las pruebas cronometradas con ambos miembros superiores, pese a que el trasplante fue unilateral. La mejoría ya estaba presente a los 3 meses del trasplante, no habiendo encontrado claras diferencias clínicas entre los pacientes tratados o no con ciclosporina. Aunque no hubo cambios globales en la medicación, los 3 pacientes que más mejoraron habían incrementado ligeramente la dosis. En el PET con ^{18}F -dopa no hubo cambios significativos al año, ni diferencias entre el hemisferio trasplantado y el contralateral. Un paciente falleció a los 7 meses del trasplante y el estudio *post-mortem* mostró escasas células porcinas únicamente en el putamen (unas 638 células TH positivas), con crecimiento de axones unos 500 μm hacia el estriado huésped (Deacon *et al.*, 1997). Este paciente recibió tratamiento con ciclosporina, y los estudios morfológicos e inmunohistoquímicos (marcadores de microglía y células T) mostraron únicamente una mínima reacción inflamatoria.

En definitiva, con la metodología utilizada, la supervivencia e integración funcional de estos trasplantes parece ser mínima y los resultados clínicos poco consistentes. Se ha realizado posteriormente un estudio “doble-ciego” controlado con placebo, en el que no se han encontrado diferencias significativas entre ambos grupos (estudio aún no publicado, citado por Stocchi y Olanow, 2003). Además, el riesgo de transmitir infecciones entre especies, y la posible necesidad de inmunosupresión, son también factores limitantes para el desarrollo futuro de los xenotrasplantes.

Trasplante de células retinianas microencapsuladas.-

El epitelio pigmentado de la retina contiene células productoras de levodopa y dopamina, que pueden ser cultivadas y encapsuladas con microtransportadores de gelatina (Esferamina[®]). Se ha demostrado en estudios experimentales que estas células microencapsuladas pueden sobrevivir en el estriado de ratas y primates, produciendo mejoría de los déficits motores. La reacción inflamatoria que producen en el cerebro huésped es mínima en ausencia de inmunosupresión (Subramanian *et al.*, 2002).

Asimismo, en monos tratados con MPTP se ha demostrado que estas células liberan dopamina *in vivo* (mediante PET con ^{18}F -dopa y ^{11}C -raclopride), y no presentan problemas de seguridad a largo plazo (distintos resúmenes presentados en congresos, revisados por Watts *et al.*, 2003).

Watts y colaboradores han llevado a cabo un estudio piloto en 6 pacientes con EP avanzada. A cada paciente se le implantaron aproximadamente 325.000 células microencapsuladas de procedencia humana en la parte posterior del putamen más afectado, sin utilizar tratamiento inmunosupresor. Los resultados clínicos a corto plazo han sido presentados en diversos congresos, con distintos tiempos de seguimiento para cada paciente, y se han publicado recientemente (Watts *et al.*, 2003). A los 6 meses del trasplante, la puntuación media en la escala UPDRS III en “off” mejoró en un 33% (los valores individuales oscilaron entre 18- 46%), y al año (n = 3) en un 48%. En todos los pacientes la mejoría ya era importante en el primer mes tras la cirugía y siguió progresando hasta el año. El procedimiento fue bien tolerado, aunque un paciente presentó una pequeña hemorragia putaminal postquirúrgica sin repercusión clínica. Específicamente se destaca la ausencia de disquinesias en situación “off” tras el trasplante.

En resumen, estas células microencapsuladas podrían funcionar durante un tiempo como “bombas” de dopamina, pero no existen datos de su posible integración funcional en el estriado, ni parece probable que ejerzan efectos tróficos sobre el cerebro huésped. Actualmente está en marcha un estudio “doble-ciego” controlado con placebo para comprobar sus auténticos efectos clínicos y neuroquímicos (citado por Stocchi y Olanow, 2003).

Trasplante de células del ganglio cervical superior.-

Las células dopaminérgicas del ganglio cervical superior podrían ser utilizadas como autotrasplante, evitando la necesidad de inmunosupresión, por lo que han sido investigadas en modelos animales de EP desde los inicios de la terapia celular. Sin embargo, los resultados obtenidos en distintos laboratorios han sido menos consistentes que con otras fuentes celulares (López-Lozano *et al.*, 2000). Un grupo de Japón ha estudiado estos trasplantes en el modelo del mono tratado con MPTP (Nakai *et al.*, 1990), y hasta en 35 pacientes con EP (Itakura *et al.*, 1997). La mitad de estos pacientes

experimentaron mejoría en la bradicinesia y en la marcha durante los 3 años posteriores a la intervención, aunque lamentablemente los datos que aportan son muy limitados. Un grupo de Budapest también ha realizado este trasplante en 3 pacientes mediante cirugía abierta, pero poco se puede concluir respecto a los resultados (Hovarth *et al.*, 1990).

En definitiva, no existen evidencias básicas ni clínicas para suponer que estos autotrasplantes puedan constituir una alternativa viable. Además, la extirpación de este ganglio simpático deja en todos los pacientes un síndrome de Horner como secuela permanente (Itakura *et al.*, 1997).

Otras fuentes celulares en modelos animales de EP.-

Las **células testiculares de Sertoli** pueden sobrevivir y mejorar los déficits motores en ratas con lesión unilateral por 6-OHDA (Borlongan *et al.*, 1997; Liu *et al.*, 1999). Estas células han demostrado poseer efectos tróficos sobre otras células dopaminérgicas (Othberg *et al.*, 1998), y son capaces de inducir reinervación en el estriado huésped (Sanberg *et al.*, 1997). Sin embargo, su aplicabilidad clínica estaría limitada por tratarse necesariamente de alotrasplantes (donación de órganos) o xenotrasplantes.

El **paraganglio de Zuckerkindl** constituye un órgano extra-adrenal productor de catecolaminas localizado junto a la aorta abdominal. Espejo y colaboradores han demostrado que el trasplante de agregados de estas células cromafines puede inducir una mejoría funcional progresiva en ratas hemiparkinsonianas (Espejo *et al.*, 2001). Esta mejoría se relaciona con la supervivencia a largo plazo de las células trasplantadas, produciendo un incremento en la concentración de dopamina y reinervación del estriado huésped. Los autores atribuyen estos resultados a la producción *in vivo* de factores neurotróficos, como GDNF y factor de crecimiento transformante- β_1 (TGF- β_1). Sin embargo, sería necesario que estos hallazgos fueran replicados por otros grupos ya que, en el momento actual, las diferencias con el tejido cromafín de la médula adrenal no han sido claramente establecidas. Además, la extirpación de este tejido en el hombre podría ser muy dificultosa (su tamaño se reduce progresivamente con la edad) y tendría probablemente una elevada morbilidad. En ese caso, su eventual aplicabilidad clínica haría necesario el alotrasplante o xenotrasplante.

Las **células PC12** derivadas del feocromocitoma de rata producen levodopa y dopamina, por lo que también han sido trasplantadas en modelos animales de EP. Mediante la encapsulación con membranas poliméricas se impide su posible expansión y se reduce la respuesta inmunológica. En primates tratados con MPTP estas células se mantienen funcionales a largo plazo, acompañándose de mejoría en la función motora y en el PET (Subramanian *et al.*, 1997; Date *et al.*, 2000; Yoshida *et al.*, 2003). Sin embargo, aunque podría ser un buen método para aportar dopamina al estriado, en realidad no constituye una auténtica terapia neurorestauradora para la EP.

II.3.- FUTURO DE LA TERAPIA CELULAR Y OTRAS ESTRATEGIAS NEURORRESTAURADORAS.-

Después de dos décadas de investigación básica y clínica sobre la terapia celular en la EP aún no se ha conseguido obtener una fuente celular capaz de regenerar fisiológicamente el sistema dopaminérgico nigro-estriatal. Las células mesencefálicas fetales humanas pueden restaurar *in situ* el déficit de dopamina a largo plazo, pero este efecto es clínicamente insuficiente en pacientes con una degeneración progresiva de éste y otros sistemas neuronales. Además, estas células plantean importantes problemas de disponibilidad y de posible rechazo inmunológico. Se han planteado otras fuentes alternativas que podrían evitar estos problemas, pero los efectos biológicos que han demostrado hasta ahora en pacientes con EP son incluso de menor magnitud.

En el momento actual se considera que una terapia neurorrestauradora ideal para la EP debería ser capaz de regenerar de una forma fisiológica el sistema dopaminérgico nigro-estriado, pero también de ejercer una acción neuroprotectora sobre el cerebro huésped, de tal forma que pudiera modificar el curso evolutivo de la enfermedad.

En este contexto, las líneas de investigación actuales se centran en:

1. Terapia celular.- El futuro de los trasplantes pasa por la obtención de una fuente celular que no plantee problemas de disponibilidad, de rechazo inmunológico ni de transmisión de infecciones; y que posea una auténtica capacidad neurorrestauradora, bien de forma directa, o a través de la acción de distintos factores tróficos sobre el cerebro huésped. En esta línea se enmarca el trasplante de agregados celulares del CC (véase apartado II.4). También se están investigando las células madre y distintas células genéticamente modificadas (terapia génica *ex vivo*).
2. Otras terapias neurorrestauradoras.- Como son la administración directa de factores neurotróficos y la terapia génica *in vivo*.

II.3.1.- Células madre.-

Las células madre o troncales son células indiferenciadas con capacidad para autorrenovarse y transformarse en diferentes tipos celulares especializados, por lo que una de sus posibles aplicaciones es la medicina regenerativa.

Las **células madre embrionarias** se obtienen de la masa celular interna del blastocisto pre-implantatorio (4-5 días post-concepción), son pluripotenciales (pueden dar lugar a cualquier tipo celular del adulto) y poseen una elevada capacidad de autorrenovación. Se ha demostrado que pueden diferenciarse en células dopaminérgicas *in vivo* tras ser trasplantadas en roedores (Deacon *et al.*, 1998; Björklund *et al.*, 2002), aunque con la posibilidad de producir teratomas (Björklund *et al.*, 2002). También se ha conseguido inducir el fenotipo dopaminérgico *in vitro* utilizando diferentes señales (como la proteína sonic hedgehog, FGF8, o los factores de transcripción Nurr-1 o Pitx-3) (Arenas, 2002). Estas células diferenciadas *in vitro*, procedentes de embriones de ratón (Kim *et al.*, 2002) o de primates (Kawasaki *et al.*, 2002), pueden sobrevivir e integrarse funcionalmente en el estriado de la rata con lesión por 6-OHDA. Sin embargo, el porcentaje de células que han sobrevivido en estos estudios (4 y 10% respectivamente) no ha sido claramente superior al obtenido con trasplantes de mesencéfalo ventral fetal. En este sentido, se desconoce si estas células dopaminérgicas precisan de otras neuronas o células gliales para su adecuada supervivencia a largo plazo en el cerebro huésped. Las células madre embrionarias se obtienen del blastocisto por fecundación *in vitro*, pero también se han conseguido por transferencia nuclear de células somáticas en ratones (la denominada “clonación terapéutica”) (Wakayama *et al.*, 2001). Mediante este método se han obtenido células dopaminérgicas diferenciadas que pueden ser trasplantadas al mismo individuo del que proceden sin riesgo de rechazo inmunológico. Se ha demostrado que estas células son capaces de producir mejoría conductual en ratones parkinsonianos (Barberi *et al.*, 2003). La experiencia actual con células madre embrionarias de procedencia humana es más reducida, siendo necesario en primer lugar controlar su expansión, así como identificar las señales internas y externas relacionadas con la inducción y el mantenimiento del fenotipo dopaminérgico.

También se han estudiado distintas **células precursoras inmaduras** procedentes del mesencéfalo embrionario de pocas semanas de desarrollo. Se trata de células neurales que han perdido potencialidad, aunque todavía pueden expandirse y

diferenciarse en neuronas dopaminérgicas en cultivo. Estas células diferenciadas *in vitro* procedentes de embriones de rata pueden sobrevivir tras ser trasplantadas en el estriado de ratas hemiparkinsonianas, aunque con baja supervivencia (Studer *et al.*, 1998; Carvey *et al.*, 2001). También se ha conseguido diferenciar células precursoras mesencefálicas humanas en neuronas dopaminérgicas (Storch *et al.*, 2001; Sánchez-Pernaute *et al.*, 2001). Sin embargo, aunque esta estrategia permitiría incrementar el número de células dopaminérgicas disponibles por cada embrión, no hay razones para suponer que la supervivencia y efectos clínicos tras el trasplante sean superiores a los obtenidos con el tejido mesencefálico fetal de 6-9 semanas de desarrollo.

Las denominadas **células madre del adulto** son células que se mantienen indiferenciadas en distintos tejidos del organismo. Conservan la capacidad de autorrenovarse y de diferenciarse en distintas células del mismo tejido donde residen (multipotencialidad), con el objetivo de contribuir a su mantenimiento y reparación. Se ha demostrado que, bajo determinadas circunstancias, también pueden dar lugar a células de tejidos distantes, mediante el proceso denominado transdiferenciación. Las células madre obtenidas de la médula ósea podrían poseer esta capacidad, pudiendo originar células neurales si reciben las señales adecuadas (Jiang *et al.*, 2002; Walczak *et al.*, 2004); sin embargo, otros autores han puesto en duda su plasticidad (Wagers *et al.*, 2002). Li y colaboradores implantaron células procedentes de la médula ósea en el estriado de ratones tratados con MPTP, observando que podían sobrevivir e inducir mejoría funcional, si bien solo algunas células aisladas expresaban TH (Li *et al.*, 2001). En este caso, los efectos observados no parecen relacionados con la diferenciación *in vivo* de estas células, sino con otros factores, como la posible liberación de factores tróficos. Otros investigadores han conseguido obtener células con fenotipo neural a partir de células madre de la sangre del cordón umbilical (Zigova *et al.*, 2002). En definitiva, aunque estos procesos están siendo mejor identificados, se desconoce si será posible obtener suficientes células dopaminérgicas funcionales a partir de células madre del adulto, ya que existen limitaciones derivadas de su difícil aislamiento y de su menor capacidad para expandirse y permanecer indiferenciadas en cultivo.

También existen células madre en determinadas regiones del cerebro adulto (zona subventricular, zona subgranular del giro dentado), que estarían implicadas en el proceso de neurogénesis (Álvarez-Buylla y García-Verdugo, 2002). Estas células

pueden dar lugar a todos los tipos celulares del sistema nervioso y adoptan el fenotipo de la región donde se implantan. La neurogénesis va declinando progresivamente con la edad, por lo que se piensa que este hecho pudiera estar relacionado con la expresión de distintas enfermedades neurodegenerativas (Maslov *et al.*, 2004). Recientemente se han identificado también células progenitoras en la sustancia negra del adulto, que son capaces de generar bajo distintas condiciones células gliales o neuronas (Lie *et al.*, 2002). Aunque la utilización de estas células del propio individuo resulta atractiva, existen grandes limitaciones que dificultan su aplicabilidad en la EP (Lim *et al.*, 2002). Por una parte, se desconoce si pueden ser obtenidas mediante cirugía (teniendo en cuenta especialmente que el proceso de neurogénesis podría estar muy reducido en estos pacientes); en segundo lugar habría dificultades para expandirlas en grandes cantidades y diferenciarlas en células dopaminérgicas funcionales; y por último tendrían que ser implantadas mediante una segunda cirugía intracraneal. Además, estas células podrían estar dañadas por la propia EP, o al menos tendrían la misma susceptibilidad genética a padecerla. Otra estrategia podría ser estimular *in vivo* la neurogénesis cerebral, promoviendo la migración y diferenciación de las células de la zona subventricular mediante la administración de factores neurotróficos o manipulación genética (Rakic, 2002).

En conclusión, la investigación con células madre podría aportar una solución al problema de disponibilidad de células para trasplante, pudiendo llegar a obtenerse una cantidad ilimitada. No obstante, sería preciso en primer lugar controlar con precisión los mecanismos de expansión y de diferenciación en células dopaminérgicas, y en segundo lugar habría que demostrar su seguridad e integración funcional a largo plazo tras el trasplante. En cualquier caso, en el momento actual no hay razones para pensar que los efectos biológicos y clínicos de estos trasplantes en pacientes con EP lleguen a ser muy superiores a los ya conocidos con mesencéfalo fetal. No obstante, la posibilidad de manipular genéticamente estas células para que puedan ejercer efectos tróficos sobre el cerebro huésped ha abierto nuevas perspectivas respecto a su aplicabilidad futura (véase apartado II.3.2).

II.3.2.- Células modificadas genéticamente (terapia génica *ex vivo*).-

Una de las líneas de investigación más prometedoras dentro de la terapia celular es la posibilidad de modificar genéticamente diferentes estirpes celulares antes de ser trasplantadas. De esta forma se podrían obtener células que ejercieran funciones predeterminadas en el cerebro huésped, como liberar diferentes neurotransmisores o factores neurotróficos. También podría modificarse la expresión de los antígenos de histocompatibilidad para evitar el rechazo inmunológico, en el caso de que las células provengan de otro individuo o especie. Las células ideales deberían poder cultivarse y expandirse fácilmente, así como sobrevivir e integrarse bien en el cerebro huésped.

Se han ensayado distintas células genéticamente modificadas en modelos animales de EP. Los fibroblastos pueden ser obtenidos del propio individuo a través de una biopsia de piel, y ser transformados genéticamente para producir levodopa (Bencsics *et al.*, 1996; Leff *et al.*, 1998; Chen *et al.*, 2003); sin embargo su integración en el cerebro es escasa (Bencsics *et al.*, 1996). Los astrocitos son células neurales que también pueden ser manipuladas para expresar TH humana, poseen un eficiente sistema secretor y se integran con facilidad en el cerebro (Cortez *et al.*, 2000; Hida *et al.*, 1999). También se ha experimentado con distintas líneas celulares inmortalizadas, que pueden ser fácilmente expandidas en cultivo, aunque existe el riesgo de producir tumores tras su implantación. En este sentido se han desarrollado técnicas de inmortalización condicional que permiten controlar su oncogenicidad (Hoshimaru *et al.*, 1996). Algunas de estas líneas celulares han sido modificadas para producir levodopa (Leff *et al.*, 1998), o factores neurotróficos como GDNF (Nakao *et al.*, 2000). Las células estromales de la médula ósea también pueden ser transformadas para producir GDNF (Park *et al.*, 2001).

Aunque la experiencia con células madre es más escasa, en la actualidad se perfilan como una fuente idónea para terapia génica *ex vivo*: estas células podrían ser expandidas y manipuladas genéticamente para obtener un fenotipo dopaminérgico (Wagner *et al.*, 1999), o para transformarse también en células productoras de GDNF (Akerud *et al.*, 2001).

II.3.3.- Administración directa de factores neurotróficos.-

Los factores tróficos son moléculas, generalmente proteínas, producidas por diferentes tipos celulares, que regulan la biología celular tanto en tejidos embrionarios como adultos. Los que actúan sobre el sistema nervioso se denominan factores neurotróficos y, entre otras funciones, regulan la diferenciación y mantenimiento del fenotipo neuronal y la sinaptogénesis. Además, estos factores protegen a las neuronas ante determinadas situaciones patológicas como la muerte por apoptosis y la acción de diferentes tóxicos. Se han identificado numerosos factores neurotróficos, agrupados en diferentes familias (**tabla II.5**).

| Familia | Principales factores tróficos |
|--|--|
| Neurotrofinas (NF) | <ul style="list-style-type: none"> • Factor de crecimiento nervioso (NGF) • Factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) • NF-3, NF-4, NF-5, NF-6 y NF-7 |
| Factor neurotrófico derivado de la glía (GDNF) [superfamilia del factor de crecimiento transformante- β_1 (TGF- β_1)] | <ul style="list-style-type: none"> • GDNF • Neurturina (NTN) • Persefina (PSP) • Artemina (ART) |
| Factor de crecimiento análogo a insulina (IGF) | <ul style="list-style-type: none"> • Insulina • IGF-1 y IGF-2 |
| Factor neurotrófico ciliar (CNTF) | <ul style="list-style-type: none"> • CNTF • Factor inhibidor de la leucemia (LIF) • Cardiotrofina 1 (CT-1) • Citoquina análoga a cardiotrofina 1 (CLC) |
| Factor de crecimiento fibroblástico (FGF) | <ul style="list-style-type: none"> • FGF-1 y FGF-2 |
| Factor de crecimiento epidérmico (EGF) | <ul style="list-style-type: none"> • EGF |
| Neuorregulinas/ Factor de crecimiento glial (GGF) | <ul style="list-style-type: none"> • GGF-1, GGF-2 y GGF-3 |
| Neuroinmunofilinas | <ul style="list-style-type: none"> • Ciclofilina • Proteína de unión a FK506 (FKBP) |
| Factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF) | <ul style="list-style-type: none"> • PDGF |

Tabla II.5.- Principales familias de factores tróficos con efectos sobre el sistema nervioso.

Las células dopaminérgicas nigro-estriatales son sensibles tanto *in vitro* como *in vivo* a la acción de distintos factores neurotróficos, principalmente GDNF, BDNF, NGF, IGF, FGF y PDGF (véanse abreviaturas en la tabla II.5). De todos ellos, el GDNF parece ejercer una acción trófica más potente sobre esta población neuronal. Tras el trabajo inicial de Lin y colaboradores demostrando que el GDNF protege a las neuronas nigricas embrionarias (Lin *et al.*, 1993), numerosos estudios han demostrado la capacidad de este factor para prevenir la degeneración neuronal y restaurar la función dopaminérgica en modelos animales de EP (Hoffer *et al.*, 1994; Tomac *et al.*, 1995; Winkler *et al.*, 1996; Gash *et al.*, 1996). En la EP humana, este factor neurotrófico es deficitario en las neuronas nigro-estriatales, lo que parece estar implicado en la patogenia de la enfermedad (Chauhan *et al.*, 2001). Por todo ello, la administración de GDNF podría ser un valioso tratamiento neuroprotector y neurorestaurador en la EP.

Uno de los principales problemas es determinar el método de administración más idóneo. Para que pueda ejercer su acción trófica, el GDNF debería permanecer constantemente en el medio extracelular de las terminales dopaminérgicas; sin embargo esta molécula no atraviesa la barrera hemato-encefálica, difunde mal en el medio extracelular y es fácilmente metabolizada. Por ello, se han planteado distintas formas de administración: unas directas (que se tratarán en este apartado) como inyecciones intermitentes, infusión continua o mediante microesferas; y otras indirectas, como el trasplantes de células genéticamente modificadas (revisado en el apartado anterior) y la transferencia génica *in vivo* (apartado II.3.4). El trasplante de células del CC como forma de administración de GDNF se revisará en el apartado II.4.3.

Grondin y colaboradores han demostrado en primates hemiparkinsonizados mediante inyecciones intracarotídeas de MPTP, que tanto la infusión intraventricular como intraputamina de 5 o 15 $\mu\text{g}/\text{día}$ de GDNF mejora la función motora y restaura parcialmente el sistema nigro-estriatal dañado (Grondin *et al.*, 2002). Los autores sugieren que el incremento observado en el número de neuronas y fibras TH positivas en el lado infundido podría estar relacionado con el rescate funcional de aquellas neuronas dañadas, pero aún no muertas por la acción del tóxico. Es interesante destacar que el incremento en el nivel de dopamina estriatal fue modesto en relación con la

mejoría motora, lo que sugiere que el GDNF podría inducir cambios funcionales en los ganglios basales mas allá de este efecto neuroquímico (Brundin, 2002).

Se ha llevado a cabo un ensayo clínico en fase I-II para evaluar la seguridad y eficacia de la **administración intraventricular de GDNF** mediante inyecciones mensuales en pacientes con EP avanzada (Nutt *et al.*; 2003). Entre 1996 y 1999 se reclutaron 50 pacientes en 14 centros de Norteamérica, implantándose a todos ellos un reservorio comunicado con el ventrículo lateral. Posteriormente fueron asignados aleatoriamente a la administración mensual de placebo (n = 12) o de diferentes dosis de GDNF (5 grupos de 7-8 pacientes, desde 25 µg hasta 4000 µg). El seguimiento cegado se realizó durante 6-8 meses, y posteriormente se continuó el estudio de forma abierta en 16 pacientes durante otros 20 meses. Los resultados han sido negativos, no habiéndose documentado mejoría clínica en la escala UPDRS con ninguna de las dosis utilizadas. Los efectos adversos fueron frecuentes, incluyendo anorexia, náuseas, pérdida de peso, parestesias descritas como “descargas eléctricas” (signo de Lhermitte) e hiponatremia. Un paciente falleció en la fase abierta por causas no relacionadas y el estudio *post-mortem* mostró únicamente una mínima inmunorreactividad para TH en el putamen posterior, sin apreciarse tampoco efectos tróficos en la sustancia negra (Kordower *et al.*, 1999). Es probable que el GDNF administrado intraventricularmente no alcance suficientemente a las neuronas dopaminérgicas nigro-estriatales.

Un pequeño estudio abierto en fase I ha estudiado los efectos de la **infusión continua de GDNF en el putamen posterior** de 5 pacientes con EP (1 paciente unilateral y 4 bilateral) seguidos durante 1 año (Gill *et al.*, 2003). Las características clínicas de estos 5 pacientes son heterogéneas, oscilando la evolución de la enfermedad entre 6 y 30 años. A pesar de ello, los autores expresan los resultados utilizando puntuaciones medias, enmascarando de esta forma el impacto clínico real en cada paciente. La puntuación media en la escala UPDRS III mejoró un 24% a los 3 meses y un 39% al año. También mejoraron significativamente la puntuación media en la subescala II de actividades cotidianas y en la escala de disquinesias. Los cambios en la dosis equivalente de levodopa oscilaron entre una reducción del 54% y un incremento del 17%. El efecto adverso más consistente fue el signo de Lhermitte, que se presentó

de forma intermitente en todos los pacientes. No hubo cambios significativos en el estudio neuropsicológico. Los pacientes fueron estudiados mediante PET con ^{18}F -dopa prequirúrgicamente y a los 6, 12 y 18 meses de tratamiento. La captación estriatal de ^{18}F -dopa sólo mejoró en una pequeña área de 3 mm alrededor de la punta del catéter (alcanzando un incremento medio del 28% a los 18 meses), mientras que la señal continuó declinando en otras áreas estriatales. En la sustancia negra derecha también se detectó un incremento medio del 16% a los 6 meses. Estos hallazgos sugieren que el GDNF podría ejercer una función farmacológica en el lugar de la infusión, estimulando localmente la liberación de dopamina, y es posible que exista también cierto transporte axonal retrógrado hacia la sustancia negra. Sin embargo, no se ha demostrado que el GDNF administrado de esta forma pueda proteger a las neuronas nigro-estriatales de la degeneración progresiva, ni que sea capaz de regenerar parcialmente este sistema neuronal. Posteriormente se comenzó un estudio controlado con placebo en 34 pacientes, que ha sido suspendido recientemente: no se ha encontrado beneficio clínico a los 6 meses y algunos pacientes han desarrollado anticuerpos anti-GDNF (datos comunicados en la reunión anual de la Asociación Neurológica Americana, octubre de 2004).

II.3.4.- Terapia génica *in vivo*.

Consiste en el tratamiento directo del cerebro con vectores que expresen determinados genes de interés terapéutico. Estos vectores pueden ser virales (adenovirus, virus adeno-asociados, virus del herpes simple o lentivirus) o no virales (liposomas, ADN desnudo o complejos ADN-proteínas). Mediante la inyección intraestriatal directa de virus atenuados se ha conseguido una adecuada transferencia génica en modelos animales de EP. Por este medio se ha logrado incrementar la expresión estriatal de TH en ratas hemiparkinsonianas, con mejoría de los déficits neuroquímicos y motores (During *et al.*, 1994; Mandel *et al.*, 1998; Leone *et al.*, 2000). En este sentido, se han obtenido mejores resultados mediante la triple transducción de TH, DDC y guanidil trifosfato (GTP) ciclohidrolasa I, los principales enzimas que intervienen en la síntesis de dopamina (Shen *et al.*, 2000). En monos parkinsonizados, la transducción de DDC en el estriado por medio de un virus adeno-asociado es capaz de mejorar la respuesta al tratamiento con dosis bajas de levodopa (Bankiewicz *et al.*, 2000).

Sin embargo, el mayor interés de la terapia génica *in vivo* reside en su potencial neurorestaurador. Se ha demostrado que la inyección intraestriatal de vectores virales que expresan GDNF promueve la regeneración dopaminérgica y mejora los déficits motores en modelos animales de EP, tanto en roedores con lesión por 6-OHDA (Bilang-Bleuel *et al.*, 1997; Kirik *et al.*, 2000), como en primates tratados con MPTP (Kordower *et al.*, 2000; Palfi *et al.*, 2002). Otra estrategia neurorestauradora ensayada en ratones tratados con MPTP es la inyección de un virus adeno-asociado que sobreexpresa una proteasa antiapoptótica (Mochizuki y Mizuno, 2003). En distintos estudios a largo plazo se siguen evaluando cuestiones relacionadas con el control de la expresión del transgen, la bioseguridad de diferentes vectores y las dianas más adecuadas. Se ha planeado organizar un ensayo clínico para evaluar la administración intraestriatal de lentivirus-GDNF en pacientes con EP (citado por Stocchi y Olanow, 2003).

Mediante terapia génica *in vivo* también se ha planteado modificar la hiperactividad del NST, aspecto crucial en la fisiopatología de la EP. En ratas hemiparkinsonianas, la inyección en el NST de virus que expresan decarboxilasa del ácido glutámico (GAD) se acompaña de mejoría motora, supuestamente mediada por el incremento del neurotransmisor inhibitorio ácido γ -amino butírico (GABA) (Luo *et al.*, 2002). Se ha propuesto un ensayo clínico en el que este tratamiento se podría llevar a cabo en pacientes con EP avanzada candidatos a ECP del NST (During *et al.*, 2001).

Teniendo en cuenta que las enfermedades neurodegenerativas humanas afectan a áreas cerebrales extensas, la inyección intracerebral podría no ser el mejor método para una terapia génica *in vivo*. Por una parte, solo se conseguiría distribuir el gen en una zona muy limitada, con efectos clínicos posiblemente insuficientes. Por otro lado, se precisaría cirugía craneal, y se añadirían los problemas relacionados con la bioseguridad de los vectores virales. Recientemente se ha desarrollado la posibilidad de utilizar una terapia génica no invasiva, mediante la administración intravenosa de nanotransportadores capaces de atravesar la barrera hemato-encefálica e introducir genes exógenos directamente en las neuronas diana (Schlachetzki *et al.*, 2004). De esta forma se ha conseguido normalizar la actividad enzimática de TH y los déficits motores de ratas hemiparkinsonianas, tras la administración intravenosa de plásmidos encapsulados en inmunoliposomas (Zhang *et al.*, 2003).

II.4.- TRAPLANTE DE AGREGADOS CELULARES DEL CUERPO CAROTÍDEO.-

II.4.1.- Estructura y función del cuerpo carotídeo (CC).-

El CC es una pequeña estructura situada bilateralmente junto a la bifurcación de las arterias carótidas (**figura II.5**). Se denomina también “paraganglio carotídeo” por contener células cromafines ricas en dopamina, así como “glomus (glomérulo) carotídeo” por la disposición histológica de estas células. En el hombre es de forma ovoidea y puede llegar a medir 5 mm de altura por 2 mm de anchura. Sus dimensiones son máximas entre los 20 y 30 años de edad, produciéndose una fibrosis progresiva a edades avanzadas (Testut y Latarjet, 1978).



Figura II.5.- Localización del CC en la bifurcación carotídea (izquierda) e imagen macroscópica del CC tras su extirpación en el hombre (derecha).

Desde el punto de vista histológico está formado por islotes o nidos celulares a modo de glomérulos, rodeados por tabiques de tejido conectivo (**figura II.6**). Se han identificado dos tipos celulares (Toledo-Aral *et al.*, 2000):

a) Las células glómicas o de tipo I: son las más abundantes y las fundamentales desde el punto de vista funcional. Su forma es redondeada u ovoidea, tienden a ocupar el centro de los islotes y poseen un citoplasma rico en vesículas de núcleo denso. Son células cromafines que derivan embriológicamente de la cresta neural (Pearse *et al.*,

1973), y comparten distintas características con las neuronas dopaminérgicas. Funcionalmente actúan como quimiorreceptores.

- c) Las células sustentaculares o de tipo II: son células aplanadas, sin especializaciones citoplasmáticas, que se sitúan en la periferia de los islotes. Se consideran células de soporte de naturaleza neuroglial.

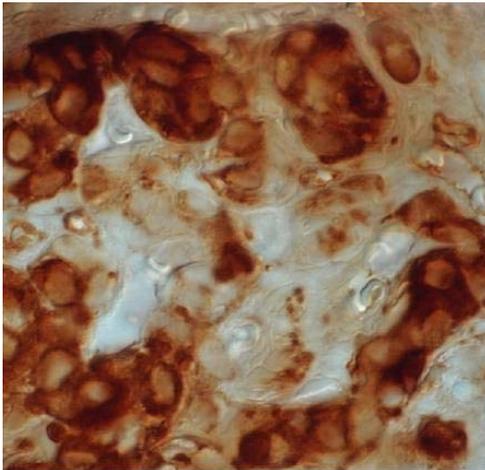


Figura II.6.- Histología del CC:

Organización característica en glomérulos de las células glómicas (tipo I), que se tiñen con un anticuerpo anti-TH.

Cada CC recibe irrigación por la arteria glómica, que frecuentemente emerge desde la carótida externa. Esta arteria forma una extensa red de capilares (el lecho vascular llega a ocupar hasta el 30% de las secciones histológicas), lo que permite mantener un elevado flujo sanguíneo. El CC recibe inervación sensorial a través del nervio del seno carotídeo (rama del nervio glossofaríngeo), que también suple a esta estructura de la pared arterial sensible a los cambios de la presión sanguínea. Las neuronas sensitivas se localizan en el ganglio petroso, y sus axones forman sinapsis con las células glómicas (González *et al.*, 2003).

La fisiología celular del CC es en la actualidad mejor conocida gracias a las aportaciones de López-Barneo y colaboradores en las últimas décadas. Funcionalmente el CC se comporta como un quimiorreceptor, que detecta principalmente cambios en la presión parcial de oxígeno de la sangre arterial (López-Barneo *et al.*, 1988; Ureña *et al.*, 1994; Montoro *et al.*, 1996; Pardal *et al.*, 2000; López-Barneo *et al.*, 2001; Pardal y López-Barneo, 2002a). Recientemente se ha demostrado que también es sensible a los niveles de glucosa (Pardal y López-Barneo, 2002b). La localización del CC en la

“puerta de entrada” al cerebro sugiere que su papel es preservar la actividad metabólica cerebral ante una disminución en el aporte de sus principales nutrientes.

Las células glómicas son células excitables, capaces de generar potenciales de acción en respuesta a la hipoxia. El descenso en la presión parcial de oxígeno genera una inhibición reversible de la corriente de potasio, con despolarización de la célula glómica, entrada de calcio y la subsiguiente liberación de neurotransmisores al espacio sináptico (**figura II.7**).

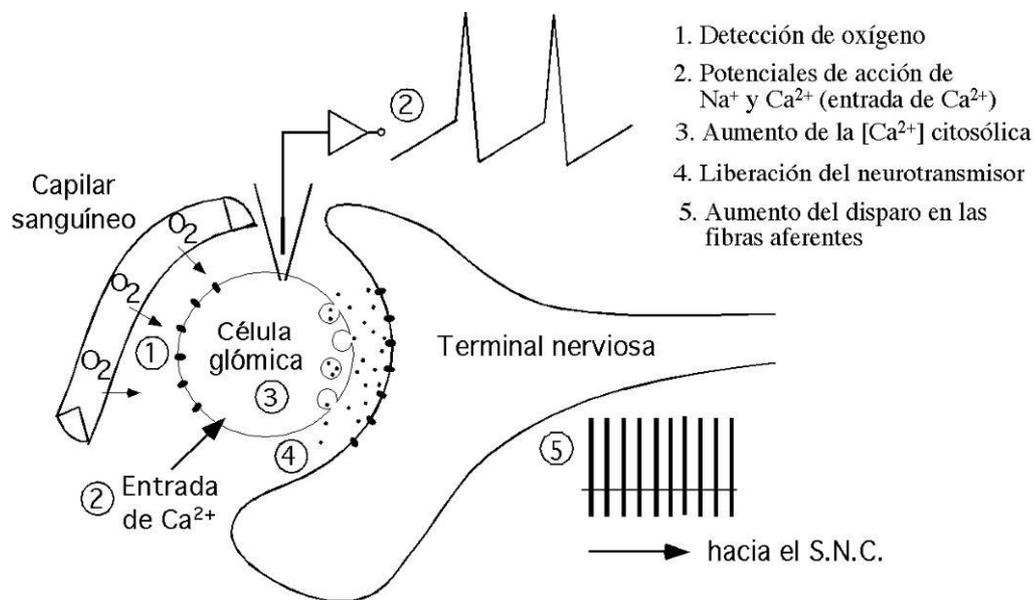


Figura II.7.- Esquema ilustrativo del proceso de detección de los niveles de oxígeno por las células glómicas del CC. (Toledo-Aral *et al.*, 2000). Abreviaturas.- SNC.: Sistema nervioso central.

Los mecanismos moleculares implicados en la detección de la concentración de oxígeno son desconocidos, aunque recientemente se ha demostrado el papel crítico de una molécula que puede ser bloqueada por la acción de rotenona y de 1-metil, 4-fenilpiridinium (MPP+), pero no por otros inhibidores del complejo I de la cadena respiratoria (Ortega-Saenz *et al.*, 2003).

La dopamina es el principal neurotransmisor del CC, de hecho las células glómicas se encuentran entre las de mayor contenido en dopamina del organismo (Fidone *et al.*, 1982). Además se han detectado otras sustancias como noradrenalina, péptidos opioides, adenosin trifosfato (ATP) y sustancia P (González *et al.*, 2003). La

excitación del axón sensitivo es transmitida a través del nervio glossofaríngeo hasta los centros respiratorios bulbares, desde donde se genera como respuesta una hiperventilación refleja compensatoria. Se considera que este mecanismo tiene una función adaptativa, permitiendo el mantenimiento del aporte cerebral de oxígeno en situaciones de hipoxia, como ocurre a grandes altitudes. La hipoxia crónica estimula el crecimiento (McGregor *et al.*, 1984) y aumenta la capacidad funcional del CC. De hecho, se produce un incremento en la síntesis de dopamina debido a la inducción del gen que codifica el enzima TH (Czyzyk-Krzeska *et al.*, 1992).

La extirpación de ambos CC fue un procedimiento que se realizó con frecuencia en la década de los años 50 para aliviar la sensación de disnea en pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica, a expensas de un ligero empeoramiento de la hipoxemia y la hipercapnia (Whipp y Ward, 1992). La función cardiorrespiratoria ha sido estudiada varias décadas después en algunos de estos pacientes: en general presentan una respuesta ventilatoria disminuida tras el ejercicio y un aumento de la frecuencia cardiaca en situación de hipoxia; sin embargo, estos cambios no fueron relevantes en pacientes sometidos a una extirpación unilateral (revisado por Honda, 1992). En animales sin disfunción respiratoria previa, la extirpación bilateral del CC impide una adecuada aclimatación a las situaciones de hipoxia crónica (Fordyce y Tenney, 1984).

II.4.2.- Trasplantes del CC en modelos animales de EP.-

Con el objetivo de reemplazar *in situ* el déficit dopaminérgico nigro-estriado, en la década de los años 80 se comenzaron a realizar trasplantes de distintos tejidos catecolaminérgicos en el modelo de la rata con lesión unilateral por 6-OHDA (véase apartado II.2.1). Gash y colaboradores realizaron trasplantes de células del CC tanto en ratas (Bing *et al.*, 1988) como en primates (López-Lozano, comunicación personal), pero los resultados conductuales e histológicos fueron negativos. En años sucesivos, la investigación básica y clínica se centró en los trasplantes de médula adrenal y de mesencéfalo fetal, con los que se obtuvieron mejores resultados.

Tras profundizar en el estudio de la fisiología celular del CC, López-Barneo y colaboradores observaron que las células glómicas reúnen una serie de características

que las hacen especialmente valiosas para el trasplante en la EP (Espejo *et al.*, 1998; revisado por Toledo-Aral *et al.*, 2002):

- a) Se encuentran entre las células del organismo con más alto contenido en dopamina.
- b) Tienen similitudes con las neuronas dopaminérgicas: proceden embriológicamente de la cresta neural, son excitables (generan potenciales de acción) y forman sinapsis con otras neuronas.
- c) La hipoxia presente en el momento del trasplante, especialmente en el estriado denervado, tiene efectos deletéreos sobre la mayoría de células y tejidos; sin embargo parece ejercer un efecto “trófico” sobre las células glómicas, estimulando su crecimiento y capacidad funcional.
- d) Pueden proceder del mismo individuo (autotrasplante), haciendo innecesaria la inmunosupresión.
- e) La resección unilateral no se acompaña de problemas clínicos relevantes.

Con estas premisas, este grupo de investigación inició estudios experimentales para determinar la potencialidad del trasplante del CC en modelos animales de EP. Se decidió utilizar agregados celulares en vez de bloques de tejido o células aisladas, de tal forma que los implantes pudieran integrarse más fácilmente en el estriado, sin alterar su estructura ni su capacidad funcional. En estudios previos se había determinado que los bloques grandes del CC podían quedar aislados del parénquima cerebral debido al tejido conectivo circundante (López-Barneo, comunicación personal). Por otro lado, las células glómicas aisladas (dispersadas enzimáticamente) pierden habitualmente sus características fisiológicas, hecho que podría explicar los malos resultados obtenidos previamente con estos trasplantes (Bing *et al.*, 1988). Por todo ello se utilizaron agregados celulares, obtenidos tras diseccionar cuidadosamente el CC y dividir el parénquima en pequeñas porciones. En los primeros estudios se utilizó un tratamiento enzimático suave (Espejo *et al.*, 1998; Luquín *et al.*, 1999), aunque posteriormente se determinó que no incrementaba la supervivencia (Toledo-Aral *et al.*, 2003).

Trasplantes en el modelo de la rata con lesión unilateral por 6-OHDA.-

Las ratas trasplantadas con esta metodología experimentaron una mejoría prácticamente completa de la asimetría motora y de los déficits de orientación sensorio-motora (Espejo *et al.*, 1998). Esta recuperación ya era aparente a los 10 días de la cirugía, y continuó progresando durante los 3 meses del estudio. Tras el análisis histológico se encontró correlación entre los efectos conductuales y la supervivencia de las células glómicas en el estriado. De las 400-600 células que se estima fueron trasplantadas, a los 3 meses se identificaron alrededor de 300 ($\approx 60\%$). Estas células estaban organizadas en estructuras glomerulares características y conservaban la capacidad para producir dopamina. A los 3 meses del trasplante, numerosas fibras TH positivas reinervaban el estriado huésped, y los niveles de dopamina se incrementaron hasta alcanzar el 65% de los valores normales. Muchas de estas fibras parecían emerger de células localizadas en el lugar del implante, sin embargo el patrón de reinervación sugería una probable contribución de las fibras intrínsecas del huésped (proceso de arborización o *sprouting*). En estudios posteriores se ha determinado que los implantes del cuerpo carotídeo pueden sobrevivir a largo plazo e inducir la reinervación del estriado durante toda la vida de la rata (Toledo-Aral *et al.*, 2003) (Véase también apartado II.4.3).

Otro grupo independiente ha replicado posteriormente un estudio similar a corto plazo (Hao *et al.*, 2002). Estos autores trasplantaron un mayor número de células (≈ 10.000), que fueron obtenidas tras la expansión *in vitro* de células glómicas de embriones del ratón transgénico H-2K^b-tsA58 (“inmortal-ratón”). Las ratas hemiparkinsonianas experimentaron una importante mejoría conductual y neuroquímica durante los 4 meses del estudio. Más recientemente, otro grupo ha realizado cotrasplantes de células del CC y del mesencéfalo ventral, obteniendo a los 3 meses una marcada restauración conductual, neuroquímica e histológica (Shukla *et al.*, 2004).

Trasplantes en el modelo del primate tratado con MPTP.-

El equipo de López-Barneo llevó a cabo un estudio colaborativo para evaluar los trasplantes de agregados celulares del CC en dos primates tratados crónicamente con MPTP (Luquin *et al.*, 1999). Tras la inducción de un parkinsonismo severo y estable, fueron trasplantados en el putamen izquierdo con agregados celulares de su propio CC.

De 2 a 4 semanas tras la cirugía iniciaron una mejoría motora progresiva, que se mantuvo durante los 5 meses del estudio. Los efectos fueron marcados sobre la bradicinesia y el temblor contralateral, así como sobre las habilidades motoras precisas, la postura y el equilibrio. Ambos animales presentaron una respuesta rotatoria hacia el lado izquierdo tras la inyección de apomorfina, lo que sugiere una menor hipersensibilidad de los receptores dopaminérgicos del estriado trasplantado debido al incremento en la liberación de dopamina. El estudio histológico mostró células glómicas TH positivas en el lugar del implante en escaso número (80-100 células por inyección). Sin embargo, el hallazgo más llamativo fue la presencia de una elevada densidad de fibras TH positivas reinervando extensas áreas del estriado ipsilateral, incluyendo la cabeza del núcleo caudado, alejada varios milímetros del lugar del implante. Este patrón sugiere fuertemente la presencia de arborización (*sprouting*) de las fibras intrínsecas del huésped. Para evaluar los efectos inespecíficos del trauma quirúrgico, a uno de estos monos se le inyectó solución Tyrode en el putamen contralateral al trasplantado, sin que se observaran efectos conductuales ni reinervación en el estudio histológico.

En un estudio posterior con 6 primates se ha determinado que los efectos conductuales del trasplante persisten al menos durante 12 meses, habiéndose documentado mediante PET un incremento en la captación estriatal de ^{18}F -dopa a los 6 y 12 meses de la cirugía (San Sebastián *et al.*, 2003). En otro estudio se ha analizado el número de células TH positivas estriatales en tres grupos de monos: 2 intactos, 2 parkinsonianos no tratados y 2 parkinsonianos trasplantados unilateralmente (Luquin *et al.*, 2004). Los tres grupos tenían células TH positivas en el estriado, aunque su número fue significativamente mayor en los monos trasplantados. El 85% de estas células también eran inmunorreactivas para GAD, lo que indica su probable origen estriatal.

II.4.3.- Efecto neurotrófico del trasplante de agregados celulares del CC.-

La desproporción existente entre el relativamente escaso número de células glómicas trasplantadas y la intensidad de sus efectos conductuales, neuroquímicos e histológicos, hacía sospechar que el mecanismo de acción de estos trasplantes podía estar mediado por factores neurotróficos.

Esta hipótesis ha sido demostrada posteriormente por López-Barneo y colaboradores tras el estudio a largo plazo del trasplante de agregados celulares del CC en 16 ratas con lesión estriatal extensa (Toledo-Aral *et al.*, 2003). En este estudio, los implantes de células glómicas sobrevivieron y mantuvieron un fenotipo estable durante toda la vida del animal (hasta un máximo de 15 meses), lo que se acompañó de mejoría funcional significativa a largo plazo. Un grupo control de 16 ratas fueron inyectadas únicamente con solución Tyrode en el estriado, sin que se documentaran efectos conductuales en el seguimiento.

El análisis de dos grupos de animales con diferentes resultados tras el trasplante pone en evidencia sus efectos neurorestauradores:

- a) Las 6 ratas que alcanzaron una recuperación funcional casi completa presentaban una alta densidad de fibras TH positivas en el estriado. Cuando se inyectó un marcador fluorescente retrógrado en el centro del área reinervada, se marcaron numerosas células en la sustancia negra y en el área tegmental ventral ipsilateral, pero no en el implante ni en otras regiones del cerebro, lo que demuestra que el origen de estas fibras son las propias neuronas nigro-estriatales del huésped (**figura II.8**).
- b) Otras 6 ratas con pobre recuperación funcional tras el trasplante presentaban una destrucción completa de la vía nigro-estriatal ipsilateral, sin apreciarse evidencia de reinervación, a pesar de la adecuada supervivencia del implante.

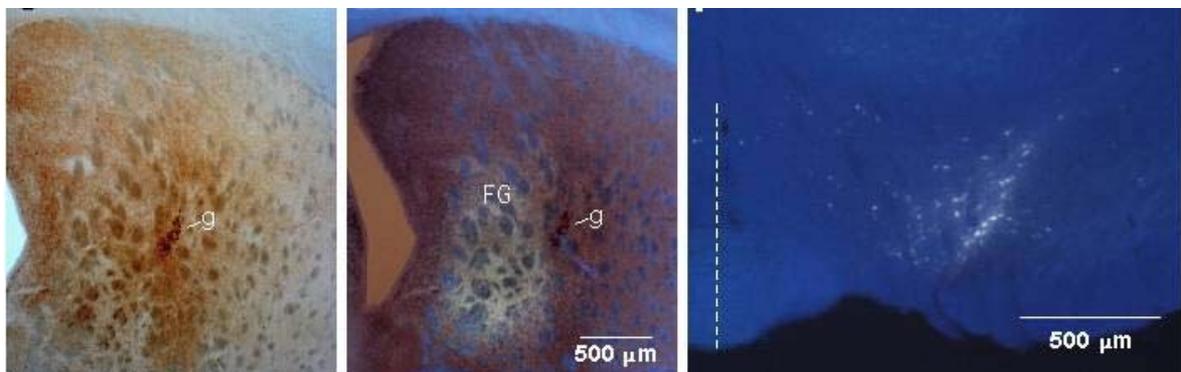


Figura II.8.- Estriado de rata mostrando el implante de células glómicas (g) y abundantes fibras TH positivas de distribución difusa (izquierda). La inyección de FG (marcador fluorescente de transporte retrógrado) en el área adyacente al implante (centro), marca numerosas neuronas en la sustancia negra ipsilateral (derecha). (Toledo-Aral *et al.*, 2003).

Estos datos demuestran que los efectos del trasplante dependen de la restauración trófica del sistema nigro-estriatal del huésped, para lo que se deben cumplir dos condiciones: que el daño producido por la enfermedad sea parcial y que las células trasplantadas sobrevivan a largo plazo. Todo ello sugiere que las células del CC deben producir uno o varios factores tróficos, capaces de ser captados retrógradamente hasta la sustancia negra por los axones nigro-estriatales aún viables. La atención se centró en la familia del GDNF (**tabla II.5**), por su potente acción neurotrófica sobre las células dopaminérgicas, y porque se había descrito previamente la elevada expresión de este factor en el CC de las ratas en desarrollo (Nosrat *et al.*, 1996).

En este contexto, se ha demostrado que el CC de roedores adultos también expresa altos niveles de GDNF y del complejo receptor multicomponente para GDNF (GFR α 1 y c-ret) (Toledo-Aral *et al.*, 2003). Estudios posteriores han determinado que son las propias células glómicas (tipo I) las que sintetizan este factor trófico, que además está ausente en otros tejidos catecolaminérgicos como la médula adrenal, el ganglio cervical superior y las células pigmentarias de la retina (López-Barneo y Toledo-Aral, comunicación personal). La producción de GDNF se mantiene a largo plazo en las células implantadas, lo que también podría estar relacionado con la mayor supervivencia de estos trasplantes.

En el momento actual se desconoce si las células del CC se dañan en el proceso patológico de la EP. Sin embargo, es de destacar la extraordinaria longevidad y resistencia de estas células, incluso después de ser trasplantadas. Además de los “efectos tróficos” de la hipoxia comentados previamente (apartado II.4.1) y de la producción de GDNF, las células glómicas carecen de sistema de recaptación de dopamina (DAT), por lo que están protegidas del estrés oxidativo relacionado con el metabolismo dopaminérgico, y de la acción tóxica de agentes como el MPP⁺ (metabolito activo del MPTP) (Toledo-Aral *et al.*, 2003). De hecho, se ha demostrado que la administración de MPTP no destruye las células glómicas del CC de ratones, manteniendo una adecuada producción de GDNF (López-Barneo y Toledo-Aral, comunicación personal). Los primates tratados crónicamente con altas dosis de MPTP también mantienen un CC relativamente preservado y activo tras el trasplante (Luquin *et al.*, 1999).

Estos datos experimentales sugieren que los trasplantes de agregados celulares del CC podrían constituir un valioso tratamiento neurorestaurador en pacientes con EP, aportando GDNF al sistema nigro-estriado de una forma selectiva y continuada, sin los riesgos relacionados con los dispositivos de infusión o con la inyección de vectores virales. Un primer estudio piloto ha demostrado que el autotrasplante de agregados celulares del CC es un procedimiento viable en humanos (Mínguez *et al.*, 2000, 2001; Arjona *et al.*, 2003). Sin embargo, se precisan nuevos estudios que permitan determinar, a medio y largo plazo, la seguridad, eficacia clínica y efectos neuroquímicos *in vivo* de estos trasplantes, de tal forma que pueda establecerse su posible aplicabilidad futura en el tratamiento de la EP.

***HIPÓTESIS Y
OBJETIVOS***



III.1.- HIPÓTESIS.-

El autotrasplante intraestriatal de agregados celulares del CC posee capacidad neuroregenerativa en pacientes con EP. Por tanto, puede modificar positivamente las manifestaciones clínicas de la enfermedad y la función dopaminérgica estriatal.

III. 2.- OBJETIVO GENERAL.-

Evaluar la seguridad, eficacia clínica y efectos neuroquímicos a largo plazo del autotrasplante intraestriatal de agregados celulares del CC en pacientes con EP.

III.3.- OBJETIVOS ESPECÍFICOS.-

III.3.1.- Principales.-

- a) Conocer la incidencia de efectos adversos relacionados directa o indirectamente con el procedimiento.
- b) Evaluar la eficacia clínica sobre las manifestaciones motoras de la enfermedad durante el primer año tras la cirugía.
- c) Determinar los cambios neuroquímicos *in vivo* sobre la función dopaminérgica estriatal, medida mediante PET cerebral con ¹⁸F-dopa al año de la intervención.

III.3.2.- Secundarios.-

- a) Evaluar la seguridad y eficacia clínica a más largo plazo (3 años) en los primeros pacientes intervenidos.
- b) Conocer los efectos sobre la capacidad funcional y la calidad de vida de los pacientes.
- c) Conocer los posibles cambios sobre las funciones neuropsicológicas.
- d) Conocer la estructura histológica del CC en pacientes con EP. Un objetivo específico es estudiar la posible presencia de marcadores característicos de esta enfermedad (cuerpos de Lewy y depósitos de α -sinucleína).
- e) Identificar los factores pronósticos relacionados con la eficacia clínica y los cambios neuroquímicos al año de la intervención.

***PACIENTES Y
MÉTODOS***



IV.1.- DISEÑO DEL ESTUDIO.-

Estudio experimental prospectivo en una cohorte de pacientes, sin grupo control, incluyendo evaluaciones “cegadas” y con seguimiento a largo plazo (ensayo en fase II).

IV.2.- SUJETOS DEL ESTUDIO.-

La muestra del estudio está constituida por 14 pacientes con EP que cumplen los siguientes **criterios de selección**:

IV.2.1.- Criterios de inclusión:

- a) Diagnóstico de EP idiopática según los criterios del Banco de cerebros de Londres (Gibb y Lees, 1988):
 1. Diagnóstico de síndrome parkinsoniano: presencia de bradicinesia (lentitud de movimientos) y al menos otra de las manifestaciones cardinales de la enfermedad: rigidez, temblor de reposo o inestabilidad postural.
 2. Ausencia de todo lo siguiente: historia de ictus o progresión escalonada; historia de traumatismos craneales de repetición; historia de encefalitis; crisis oculógiras; tratamiento con neurolépticos al inicio; más de un familiar afectado; remisión mantenida; afectación unilateral estricta después de 3 años; parálisis supranuclear de la mirada; signos cerebelosos; afectación autonómica severa precoz; demencia severa precoz; signo de Babinski; prueba de neuroimagen con tumor cerebral o hidrocefalia; falta de respuesta a dosis altas de levodopa; exposición a MPTP.
 3. Criterios prospectivos de apoyo (al menos 3 de los siguientes): comienzo unilateral; temblor de reposo; curso progresivo; asimetría persistente; respuesta excelente (70-100%) a la levodopa; corea severa inducida por levodopa; respuesta a la levodopa durante 5 o más años; curso clínico durante 10 o más años.
- b) Edad menor de 65 años.
- c) Evolución de la EP durante al menos 5 años.
- d) Presencia de fluctuaciones motoras.

- e) Estadio de Hoehn y Yahr en situación “off” (sin el efecto de la medicación) ≥ 3 (véase Anexo II).
- f) Discapacidad funcional derivada de las manifestaciones motoras de la EP.
- g) Ausencia de beneficio clínico satisfactorio a pesar de haberse optimizado el tratamiento farmacológico. Si bien es necesario que haya existido respuesta a la medicación dopaminérgica, ésta puede ser insuficiente por complicaciones secundarias al tratamiento crónico o por intolerancia del paciente.
- h) Capacidad para otorgar libremente el consentimiento informado y seguir el protocolo del estudio.

IV.2.2.- Criterios de exclusión:

- a) Mujeres en edad fértil.
- b) Presencia de otras enfermedades cuando:
 - Impliquen un mal pronóstico vital o funcional a medio plazo.
 - Incrementen significativamente el riesgo quirúrgico.
 - Sus efectos, o los de sus tratamientos (previos o actuales), puedan interferir con los resultados del estudio.
- c) Cirugía craneal previa.
- d) Calidad de vida limitada por otras causas distintas de la EP.
- e) Deterioro cognitivo.
- f) Co-morbilidad psiquiátrica: depresión severa, psicosis activa, inestabilidad emocional o toxicomanía.
- g) Resonancia magnética (RM) con atrofia cerebral importante, aumento del tamaño ventricular u otras anomalías que pudieran suponer mayores riesgos o dificultades en el procedimiento estereotáctico.
- h) En los pacientes sometidos a un PET cerebral con ^{18}F -dopa prequirúrgico: hallazgos inconsistentes con el diagnóstico de EP.
- i) Cirugía previa en la región de la bifurcación carotídea o presencia de cambios estructurales conocidos que pudieran suponer mayores riesgos o dificultades en el procedimiento de extirpación de un CC.

El estudio ha sido aprobado por el Comité Ético del Hospital Virgen de las Nieves de Granada, donde se ha realizado la selección de los pacientes, las intervenciones quirúrgicas y el seguimiento clínico (el certificado de aprobación se reproduce en las primeras páginas de esta memoria de tesis doctoral). Asimismo, la realización de los estudios mediante PET con ^{18}F -dopa ha sido aprobada por el Comité Ético de los Hospitales *Hammersmith*, *Queen Charlotte* y *Chelsea and Acton* de Londres (Reino Unido).

Todos los pacientes otorgaron por escrito el consentimiento informado para participar en el estudio (Anexo X) y, en su caso, para la realización de los PET con ^{18}F -dopa en la *MRC Cyclotron Unit* del Hospital *Hammersmith* de Londres (Anexo XI).

IV.3.- PERIODO DEL ESTUDIO.-

La evaluación prequirúrgica se ha realizado durante un periodo mínimo de 3 meses. Tras la intervención, el periodo de seguimiento del estudio es de 1 año. Posteriormente, los pacientes han continuado bajo seguimiento abierto indefinido.

IV.4.- DESARROLLO GENERAL DEL ESTUDIO.-

El estudio está compuesto por dos cohortes de pacientes, reclutados e intervenidos en diferentes tiempos:

- a) Primer sub-estudio (A).- Se trata de un estudio piloto que incluye la primera serie de 6 pacientes. Su objetivo fundamental es evaluar la viabilidad técnica y la seguridad del trasplante. Los 6 pacientes trasplantados se han denominado A1-A6, y en la actualidad han completado los 3 años de seguimiento.
- b) Segundo sub-estudio (B).- Tras evaluar los resultados del primer sub-estudio al año de la intervención, se comenzó el reclutamiento de la segunda serie de 8 pacientes. Su objetivo fundamental es evaluar la eficacia clínica en una muestra más amplia de pacientes y estudiar los efectos neuroquímicos del trasplante. Los criterios de selección expuestos (apartado IV.2) son válidos para todos los pacientes, aunque para este segundo sub-estudio la edad límite fue más restrictiva (60 años en lugar de 65). Ello fue debido a que el único paciente del primer sub-estudio que superaba los 60 años presentaba un CC fibroso y no obtuvo beneficio tras la cirugía. El cuarto paciente reclutado para este segundo sub-estudio (de 54 años) no fue finalmente

trasplantado: tras la extirpación de su CC derecho se apreció macroscópicamente que éste era muy fibroso, con escaso parénquima viable. Los 7 pacientes trasplantados se han denominado B1-B7, y en la actualidad han completado el año de seguimiento.

Todos los pacientes han sido seleccionados por el Servicio de Neurología del Hospital Virgen de las Nieves de Granada, entre los remitidos para tratamiento quirúrgico de la EP. Durante el periodo de reclutamiento, los pacientes candidatos fueron informados suficientemente sobre este estudio y sobre las demás alternativas de tratamiento atendiendo a su situación clínica. La mayoría de los pacientes que decidieron participar aceptaron también que, en caso de no obtener beneficio satisfactorio tras el trasplante, podrían ser intervenidos más adelante mediante ECP bilateral.

En la **figura IV.1** se representa el desarrollo general del estudio, que se expondrá con detalle en los próximos apartados. Tras obtener el consentimiento informado (Anexo X) se inicia el periodo de evaluación prequirúrgica, que ocupa al menos 3 meses. En algunos casos ha sido necesario prolongar este periodo durante un tiempo opcional, con el fin de optimizar el tratamiento farmacológico, o de confirmar evolutivamente la ausencia de alguna causa de exclusión. Para ello se han programado una o varias visitas médicas y se ha realizado una “evaluación clínica básica” (véase apartado IV.6.1). Durante los 3 meses previos a la cirugía se ha mantenido estable la medicación y se han realizado los estudios de neuroimagen prequirúrgicos: RM cerebral, PET cerebral con ^{18}F -dopa (en los pacientes B1-B7) y SPECT cerebral con ioflupano (en las pacientes B6 y B7) (véase apartado IV.7). Asimismo se ha realizado el protocolo de estudio básico prequirúrgico, que incluye una analítica de sangre (hemograma, bioquímica sérica y coagulación), un electrocardiograma, una radiografía simple del tórax y una evaluación especializada del riesgo anestésico. Tras completar este periodo, se ha confirmado que cada paciente cumple todos los criterios de inclusión y ninguno de exclusión. Los estudios clínicos basales se han llevado a cabo durante la semana previa al procedimiento quirúrgico y consisten en: una “evaluación clínica básica”, un estudio neuropsicológico y escalas de calidad de vida (éstas últimas en los pacientes B1-B7) (véase la descripción de estos estudios en el apartado IV.6).

Tras la cirugía (véase apartado IV.5), se ha realizado una RM craneal para valorar la posible presencia de complicaciones estructurales y comprobar la localización de los tractos quirúrgicos. Los pacientes han sido evaluados clínicamente cada 3 meses durante el primer año, y cada 6 meses a partir de entonces. A los 6-12 meses tras la intervención, además de la “evaluación clínica básica” se ha realizado un estudio neuropsicológico y se han obtenido escalas de calidad de vida (éstas últimas en los pacientes B1-B7) (véase apartado IV.6). Al segundo grupo de pacientes se les realizó un PET cerebral con ^{18}F -dopa al año del trasplante, y las pacientes B6 y B7 fueron también estudiadas mediante SPECT cerebral con ioflupano a los 6 meses y al año de seguimiento (véase apartado IV.7). Además de las evaluaciones incluidas en el protocolo del estudio, los pacientes fueron revisados “a demanda”, de tal forma que se pudieran recoger con precisión todos los acontecimientos adversos y se pudiera reevaluar el tratamiento farmacológico.

La **medicación** se trató de mantener estable durante todo el estudio, por lo que sólo se permitieron cambios si la situación clínica del paciente se había modificado de forma sustancial y con ello era esperable un mayor beneficio clínico. De esta forma, la dosis total de medicación se redujo si se había producido una mejoría clínica evidente o se habían incrementado sus efectos secundarios (principalmente las disquinesias en situación “on”); y se aumentó cuando se había incrementado la severidad o duración de los periodos “off”.

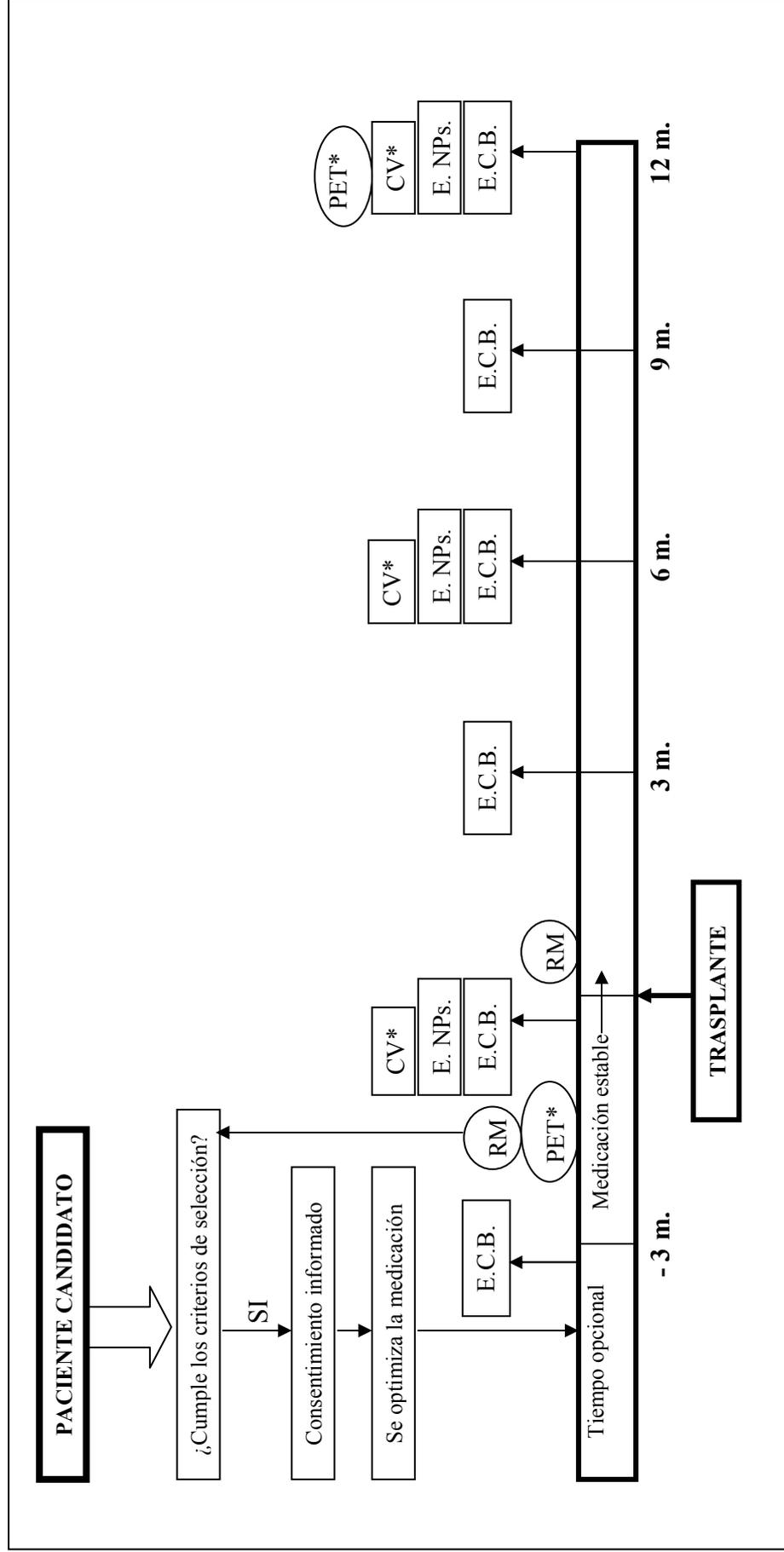


Figura IV.1.- Desarrollo general del estudio (véanse también apartados IV.6 y IV.7). *: Sólo en los pacientes del segundo sub-estudio (B1-B7).
 Abreviaturas.- CV: calidad de vida; E.C.B.: evaluación clínica básica; E. NPs.: estudio neuropsicológico; PET: tomografía por emisión de positrones; RM: resonancia magnética; m.: meses (signo - : previo al trasplante).

IV.5.- PROCEDIMIENTO QUIRÚRGICO.-

El trasplante intraestriatal de agregados celulares del CC se realizó en un mismo tiempo quirúrgico, bajo anestesia general, en el Servicio de Neurocirugía del Hospital Universitario Virgen de las Nieves de Granada. Entre las intervenciones del primer y segundo sub-estudio transcurrió un intervalo de 2 años. El procedimiento quirúrgico consta de dos partes diferenciadas:

IV.5.1.- Extirpación y procesamiento del CC derecho.-

Tras la exposición quirúrgica de la bifurcación carotídea derecha, se procedió a disecar el tejido adherido a la adventicia de la arteria carótida interna con la ayuda de un microscopio. La pieza de tejido extirpada (**figura IV.2a**), que incluye al CC, se depositó en una placa de Petri con solución Tyrode y fue llevada inmediatamente a un laboratorio anexo al quirófano. Después de eliminar cuidadosamente la grasa y el tejido conectivo, el CC se identificó como una estructura ovoide de 3 o 4 mm de diámetro mayor (**figura IV.2b**). Con unas pequeñas tijeras fue dividido en aproximadamente 140 porciones de 150-300 μm (**figura IV.2c**), reservando una parte para el ulterior estudio histológico (véase apartado IV.8).

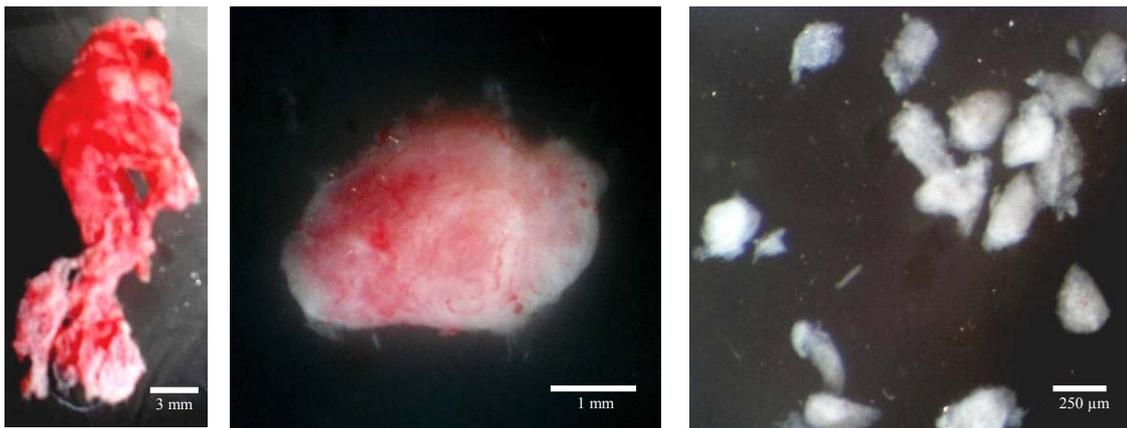


Figura IV.2.- A) pieza quirúrgica; B) cuerpo carotídeo y C) agregados celulares.

Siguiendo los protocolos utilizados en modelos animales (Espejo *et al.*, 1998; Luquin *et al.*, 1999), los agregados celulares de los 5 primeros pacientes (A1-A5) fueron sometidos a un tratamiento enzimático suave durante 20 minutos, utilizando una solución compuesta por 1 mg/ml de tripsina, 1 mg/ml de colagenasa y 0'2 mg/ml de

desoxirribonucleasa. Tras determinar en estudios paralelos en animales que este tratamiento no parecía incrementar la supervivencia de los implantes, no se llegó a realizar en el resto de los pacientes, acortando de esta forma el procedimiento quirúrgico. Después de lavar los enzimas, los agregados celulares se suspendieron en solución Tyrode y fueron trasladados al quirófano sobre una placa de Petri. El tiempo de procesamiento del CC en el laboratorio osciló entre 60-90 minutos, durante los cuáles se completó la cirugía cervical (sutura por planos de la herida quirúrgica) y se comenzó el procedimiento de localización estereotáctica.

IV.5.2.- Localización e implantación estereotáctica bilateral.-

Tras fijar el marco estereotáctico Cosman-Roberts-Wells al cráneo del paciente, se realizó una tomografía axial computarizada (TAC) craneal para determinar las coordenadas de la línea intercomisural. Previamente se habían seleccionado las coordenadas teóricas de los puntos de implante en cada estriado, a partir del atlas estereotáctico de Schaltenbrand y Wharen (Schaltenbrand y Wharen, 1977) (**tabla IV.1**). Para todos los pacientes se eligieron 3 puntos en cada putamen (anterior, medio y posterior). A los pacientes 5º y 6º del primer estudio (A5 y A6) se les realizó un implante adicional en la cabeza de cada núcleo caudado.

| Hemisferio | Implante | Coordenadas | | |
|------------|------------------|------------------|---------|----------|
| | | Antero-posterior | Lateral | Vertical |
| Derecho | Putamen ant. | 7 | 27 | 3 |
| | Putamen medio | 0 | 27 | 4 |
| | Putamen post. | - 5 | 27 | 3 |
| | Caudado (cabeza) | 27 | 16 | 7 |
| Izquierdo | Putamen ant. | 7 | -27 | 3 |
| | Putamen medio | 0 | -27 | 4 |
| | Putamen post. | - 5 | -27 | 3 |
| | Caudado (cabeza) | 27 | -16 | 7 |

Tabla IV.1.- Coordenadas de las dianas estriatales expresadas en milímetros de distancia respecto a la línea intercomisural.- “Antero-posterior”: distancia anterior (positiva) o posterior (negativa) al punto medio de la línea intercomisural; “lateral”: distancia hacia la derecha (positiva) o hacia la izquierda (negativa) de la línea intercomisural (o de la línea media interhemisférica); y “vertical”: distancia por encima (positiva) de la línea intercomisural. NOTA: los implantes en la cabeza de cada núcleo caudado solo se realizaron de forma adicional en los pacientes A5 y A6. Abreviaturas.- ant.: anterior; post.: posterior.

Con la ayuda de un programa informático (Servicios de Neurocirugía y Física Médica, Hospital Universitario Virgen de las Nieves de Granada) se procedió a calcular las coordenadas de cada diana referidas al marco estereotáctico del paciente.

Cuando los agregados celulares estaban preparados y los cálculos finalizados, se realizaron dos orificios de trépano de 14 mm de diámetro, situados por delante de la sutura coronal y a 4 cm de la línea media. Tras fijar en el marco las coordenadas del putamen posterior derecho, se introdujo una cánula de acero (1'2 mm de diámetro exterior) hasta alcanzar la diana. Con una jeringa de Hamilton conectada a un pequeño tubo de plástico se aspiraron 15-30 agregados celulares suspendidos en solución Tyrode, que quedaron en la punta del tubo. Éste se introdujo por el interior de la cánula hasta la diana, y se inyectó lentamente la mitad del contenido aspirado. Después de 1 minuto de espera para que se estabilizara la presión, se retiró la cánula unos milímetros y se inyectó la otra mitad, esperando de nuevo 1 minuto. Tras retirar la cánula se lavó el tubo de plástico con solución salina para comprobar que no quedaban agregados celulares.

Este proceso se repitió de forma similar en cada una de las 6 dianas seleccionadas (8 dianas en los pacientes A5 y A6). En cada hemisferio se comenzó por el putamen posterior (el área más afectada por la EP), de tal forma que se asegurara al menos un implante en esta localización en el caso de que no se pudiera completar el procedimiento por problemas médicos o técnicos. Debido a problemas técnicos, el paciente A5 recibió pocos agregados celulares en el hemisferio izquierdo (menos de un 30% de los previstos), siendo desconocida esta circunstancia por los neurólogos evaluadores hasta finalizar el año de seguimiento.

Tras suturar las heridas quirúrgicas, los pacientes fueron trasladados a la sala de Reanimación del Servicio de Anestesia, donde fueron monitorizados entre 12-24 horas tras la intervención. Posteriormente fueron atendidos en la planta de Neurocirugía hasta su alta hospitalaria.

En la primera semana tras la cirugía se realizó una RM cerebral (0'5 Tesla) para valorar la posible presencia de complicaciones estructurales y comprobar la localización de los tractos quirúrgicos (**figura IV.3**).



Figura IV.3.- Imagen de RM cerebral potenciada en T2 (0'5 Tesla) mostrando la localización de los tractos quirúrgicos en el putamen posterior (flechas blancas).

IV.6.- EVALUACIONES CLÍNICAS.-

El estudio clínico de los pacientes se ha realizado siguiendo las recomendaciones de los protocolos CAPIT (Langston *et al.*, 1992) y CAPSIT-PD (Defer *et al.*, 1999), adaptadas por el Servicio de Neurología del Hospital Virgen de las Nieves de Granada. Consta de tres apartados: “evaluación clínica básica”, estudio neuropsicológico y estudio de la calidad de vida. En sus aspectos básicos coincide con el “Protocolo de Uso Tutelado de los tratamientos neuroquirúrgicos de la EP” (Agencia de Evaluación de Tecnologías Sanitarias de Andalucía, 2001), con el que se evalúan los pacientes con EP intervenidos mediante ECP en el ámbito del Sistema Nacional de Salud español.

IV.6.1.- “Evaluación clínica básica”.-

Todos los pacientes han sido evaluados clínicamente en la semana previa a la intervención, y a los 3, 6, 9 y 12 meses de seguimiento (véase apartado IV.4 y **figura IV.1**). Posteriormente, los pacientes del primer sub-estudio (A1-A6) también han sido evaluados cada 6 meses hasta completar los 3 años de seguimiento.

En cada visita, la denominada “evaluación clínica básica” se ha realizado en dos situaciones predefinidas:

- a) “Off basal” (en adelante, “off”).- Por la mañana, tras haber suspendido la medicación antiparkinsoniana durante 12 horas, y al menos 1 hora después de despertarse (para evitar el beneficio clínico inducido por el sueño).
- b) “Mejor on” (en adelante, “on”).- Periodo de máximo beneficio tras la administración de la primera dosis matutina de levodopa (“test de levodopa”), reconocido por el propio paciente y por el médico evaluador.

En ambas situaciones (“off” y “on”) se han obtenido las siguientes escalas y pruebas:

- Escala Unificada para la EP (UPDRS): compuesta por las sub-escalas I (estado mental), II (actividades cotidianas), III (exploración motora) y IV (complicaciones) (Anexo I).
- Estadio de Hoehn y Yahr (Anexo II).
- Escala de Schwab & England (Anexo III).

- Índice de Barthel (pacientes B1-B7) (Anexo IV).
- Escala de disquinesias del protocolo CAPIT (Anexo V).
- Pruebas cronometradas de miembros superiores y de la marcha (Anexo VI).
- Prueba de escritura (sobre la que se puntuó el ítem 8 de la escala UPDRS).

Tanto en “off” como en “on” se ha realizado una **videofilmación protocolizada** de los pacientes (Anexo VII), de tal forma que permita la puntuación “cegada” de la escala UPDRS III por un evaluador independiente. Esta grabación es similar a la efectuada a los pacientes intervenidos mediante ECP en nuestro centro, y ha sido adecuadamente enmascarada para evitar cualquier referencia visual que permita la identificación del procedimiento quirúrgico o del momento evolutivo. A lo largo del desarrollo del estudio se realizaron de forma sucesiva hasta 5 montajes de vídeo, incluyendo secuencias en situación “off” de los pacientes trasplantados en distintos momentos evolutivos, así como otras secuencias de pacientes intervenidos mediante ECP, todas ellas ordenadas de forma aleatoria. Un neurólogo independiente, no implicado en la selección ni en el seguimiento de los pacientes, puntuó la escala UPDRS III a partir de estos montajes (excepto el ítem 22, que evalúa la rigidez). Se dejó transcurrir un intervalo mínimo de 6 meses entre estas evaluaciones “cegadas” para minimizar la posibilidad de recuerdo por parte del evaluador.

En cada visita clínica los pacientes aportaban un **diario de fluctuaciones motoras** correspondiente a la semana previa (Anexo VIII), sobre el que se calcularon los porcentajes de tiempo medio en cada situación (“off”, “on parcial”, “on” y “on con disquinesias”) respecto al tiempo de vigilia. A partir de estos cálculos se puntuó el ítem 39 de la escala UPDRS (con el que se evalúa el tiempo transcurrido en situación “off”), y también la escala que mide la duración de las disquinesias recomendada en el protocolo CAPIT.

También en cada visita se calculó la **dosis equivalente de levodopa** diaria, expresada en mg/día de levodopa estándar. Para ello se sumó la dosis diaria de los distintos fármacos dopaminérgicos de acuerdo con las equivalencias expresadas en la **tabla IV.2**.

| | |
|----------------------------------|---------------|
| Levodopa estándar | 100 mg |
| Levodopa de liberación retardada | 140 mg |
| Bromocriptina | 10 mg |
| Lisurida | 1 mg |
| Pergolida | 1 mg |
| Ropinirol | 5 mg |
| Pramipexol sal (pramipexol base) | 1 mg (0'7 mg) |
| Selegilina | 10 mg |
| Amantadina | 100 mg |
| Apomorfina | 10 mg |
| Cabergolina | 1'5 mg |

Tabla IV.2.- Equivalencias de distintos fármacos dopaminérgicos en relación a 100 mg de levodopa estándar (Mínguez-Castellanos *et al.*, 2005; modificado).

Además de la recogida sistemática de **acontecimientos adversos**, se consideró específicamente la posible aparición de disquinesias en situación “off” y se determinó en cada visita la tensión arterial en reposo y el peso (pacientes B1-B7).

IV.6.2.- Estudio neuropsicológico.-

La valoración clínica prequirúrgica, y a los 6-12 meses tras la intervención, fue completada con un estudio neuropsicológico, mediante el que se evaluaron distintos aspectos como: atención, percepción, memoria verbal y visual, lenguaje, funciones ejecutivas y nivel de ansiedad. Los pacientes fueron estudiados de forma estandarizada, habitualmente en varias sesiones aprovechando los periodos “on”. Se administraron las siguientes pruebas (véase el pie de la **tabla V.15** para más detalles):

- Test de la figura compleja de Rey.
- Sub-test de memoria verbal del “Test Barcelona”.
- Test de vocabulario de Boston.
- Test de palabras y colores STROOP.
- Test de fluidez verbal con consigna fonémica y semántica.
- Sub-test “Semejanzas” de la Escala de Inteligencia de Wechsler para adultos.
- Cuestionario de ansiedad como “estado” y como “rasgo”.

IV.6.3.- Estudio de la calidad de vida.-

Los pacientes del segundo sub-estudio (B1-B7) fueron estudiados antes de la cirugía, y a los 6 y 12 meses de seguimiento, mediante el cuestionario de calidad de vida PDQ-39, que incluye 8 dominios: movilidad, actividades cotidianas, bienestar emocional, estigma, apoyo social, problemas cognitivos, comunicación y malestar corporal (Anexo IX). Asimismo, a los 6 y 12 meses tras la intervención se solicitó al paciente que se autoevaluara en una escala de Impresión Clínica Global, según se encontrara “peor”, “igual” o “mejor” que antes de la cirugía.

IV.7.- NEUROIMAGEN FUNCIONAL.- (Véase también apartado II.1.9).

IV.7.1.- PET cerebral con ^{18}F -dopa.-

Los 8 pacientes seleccionados para el segundo sub-estudio fueron estudiados mediante PET cerebral con ^{18}F -dopa prequirúrgico, repitiéndose esta prueba al año de la intervención a los 7 pacientes que fueron trasplantados (B1-B7). Estos estudios fueron realizados por el equipo del profesor Brooks en la *MRC Cyclotron Unit* del Hospital *Hammersmith* de Londres (Reino Unido).

Los pacientes suspendieron la medicación antiparkinsoniana durante al menos 12 horas antes de la prueba. Se administró una dosis oral de 150 mg de carbidopa y 400 mg de entacapona, seguido una hora después de la inyección intravenosa de 111 MBq de ^{18}F -dopa. Posteriormente se comenzó la adquisición de imágenes tridimensionales con una cámara ECAT EXACT HR++ (CTI/Siemens 966, Knoxville, Tennessee, EEUU). Se estudiaron 26 marcos temporales durante un tiempo total de 94'5 minutos, generándose posteriormente imágenes paramétricas de las constantes de captación de ^{18}F -dopa (Ki) correspondientes al intervalo entre los minutos 25'5 y 94'5 tras la inyección. Como referencia se utilizaron los valores de captación en la región occipital durante los mismos marcos temporales.

En cada estudio, las variables principales de análisis fueron los valores Ki medios de las de las áreas volumétricas de interés: putamen y caudado de cada hemisferio. Adicionalmente, se compararon los estudios prequirúrgicos y postquirúrgicos mediante Mapeo Paramétrico Estadístico (SPM), tras calcular a partir de imágenes normalizadas los valores Ki medios de cada voxel para todo el grupo de pacientes. Todos los análisis fueron llevados a cabo de forma “cegada” por un equipo independiente, no implicado en la selección ni en el seguimiento clínico de los pacientes.

IV.7.2.- SPECT cerebral con ioflupano.-

Las pacientes B6 y B7 también se estudiaron mediante SPECT cerebral con ioflupano prequirúrgico, y a los 6 y 12 meses tras el trasplante, en el Servicio de Medicina Nuclear del Hospital Universitario Virgen de las Nieves de Granada (Dres. Gómez-Rio y Llamas).

Para minimizar la captación tiroidea del posible ^{123}I libre, se bloqueó esta glándula mediante la administración oral de 10 gotas de solución de Lugol (ioduro potásico al 5%) diluidas en agua, 30-60 minutos antes de la prueba y 12-24 horas después. Se inyectaron por vía intravenosa 148 MBq de ^{123}I -FP-CIT (ioflupano) y 4 horas después se comenzó la adquisición de imágenes con una gammacámara de tres detectores Prism 3000, equipada con colimadores neurofocales de media energía y ultra-alta resolución. El estudio original se obtuvo en una matriz de 128 x 128 pixels, con muestreo angular de 360° en órbita circular y un radio de adquisición de 12'9, siendo el tamaño de píxel estimado de 2'2 mm. Posteriormente se llevó a cabo la reconstrucción tomográfica de las imágenes y la corrección de la atenuación en profundidad. Se realizó una valoración visual cualitativa de la captación estriatal y un análisis semi-cuantitativo de la captación regional en cada estriado con respecto a la corteza occipital.

IV.8.- ESTUDIO HISTOLÓGICO DEL CC.-

De cada CC extirpado se reservó una pequeña porción para el estudio histológico. Con el fin de disponer de la máxima cantidad de tejido funcionalmente activo para el trasplante, esta porción se obtuvo de la zona periférica. El fragmento se fijó durante 24 horas con paraformaldehído al 4% en solución salina tamponada con fosfato a 4° C de temperatura. Posteriormente se realizaron secciones de 30-100 µm de grosor con un Vibratomo (Vibratome, St.Louis, MO, EEUU).

Se llevaron a cabo estudios inmunohistoquímicos mediante la incubación con un anticuerpo policlonal anti-TH (1:1000) y después con un anticuerpo secundario anti-conejo (1:200). Mediante este estudio se confirmó la identidad del tejido y se valoró su integridad histológica, teniendo en cuenta que podría ser inferior a la del tejido trasplantado por tratarse de un fragmento periférico. En función de la abundancia de glomérulos y células TH positivas, se estableció una clasificación cualitativa en 5 categorías: desde 0 (prácticamente ausencia de elementos TH positivos), hasta 4+ (abundantes glomérulos de células TH positivas con distribución uniforme) (**figura IV.4**). Esta clasificación se realizó de forma “cegada” por investigadores no implicados en la selección ni en el seguimiento clínico de los pacientes (profesores López-Barneo y Toledo-Aral, del Laboratorio de Investigaciones Biomédicas del Hospital Universitario Virgen del Rocío de Sevilla).

Adicionalmente se estudió la posible presencia de cuerpos de Lewy y depósitos de α -sinucleína en los fragmentos del CC de los pacientes del segundo sub-estudio. En primer lugar, las secciones del CC se estudiaron con técnicas convencionales, incluyendo tinciones de hematoxilina-eosina y cromogranina. Posteriormente se realizaron tinciones inmunohistoquímicas utilizando un anticuerpo anti- α -sinucleína (1:20), seguido de incubación con el complejo streptavidina-biotina-peroxidasa y revelado con diaminobenzidina (Dr. Chinchón; Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Universitario Virgen del Rocío de Sevilla).

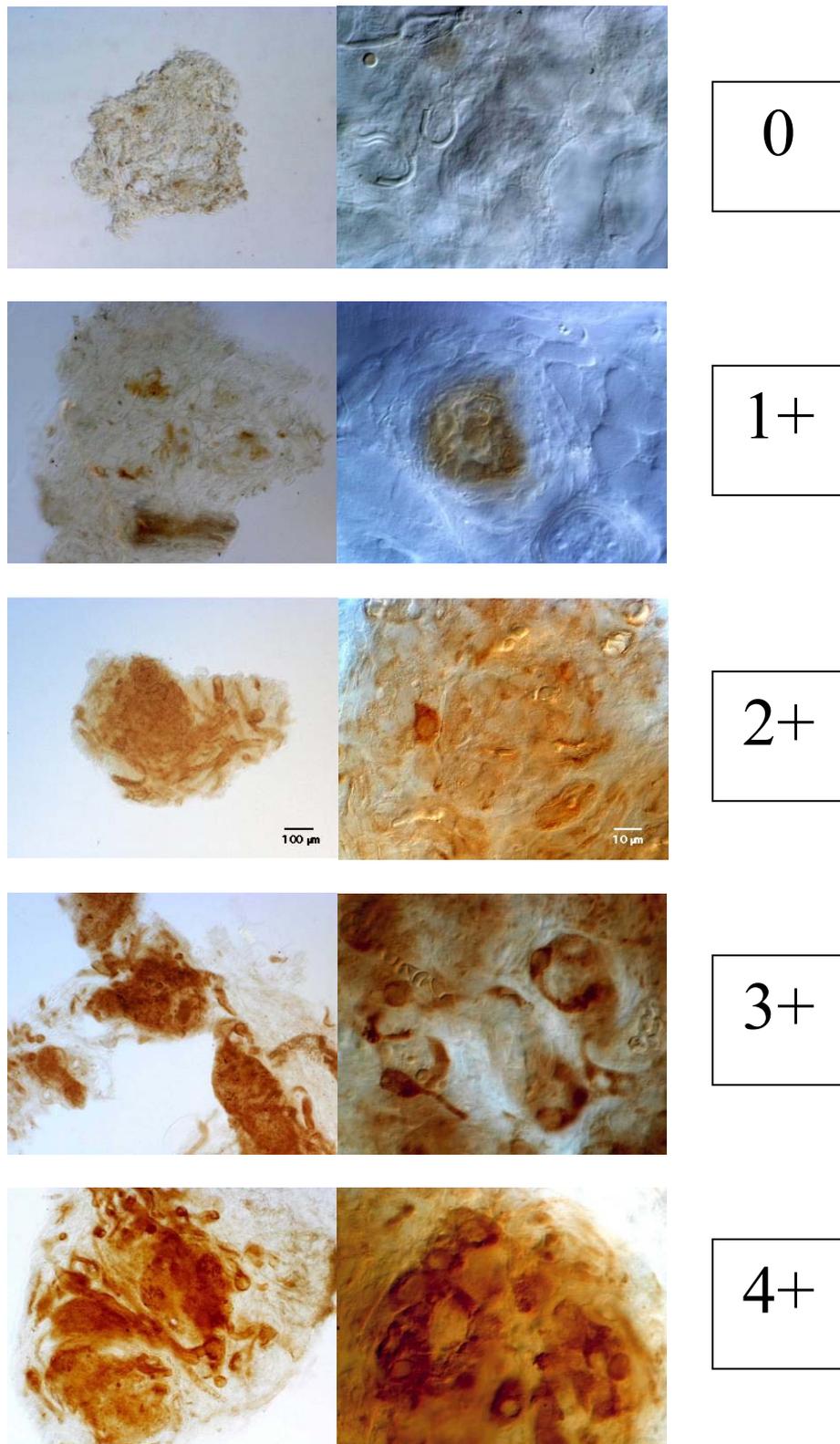


Figura IV.4.- Integridad histológica del fragmento estudiado del CC: clasificación cualitativa desde 0 (prácticamente ausencia de elementos TH positivos), hasta 4+ (abundantes glomérulos con distribución uniforme). A la derecha se sitúan las imágenes con mayor aumento (véase la barra de medida en las imágenes correspondientes a la categoría “2+”).

IV.9.-VARIABLES DEL ESTUDIO.-

IV.9.1.- Variables resultado.-**Seguridad**

1. Incidencia de acontecimientos adversos, graves o leves, relacionados directa o indirectamente con el procedimiento.
2. Incidencia de disquinesias en situación “off”.
3. Cambio absoluto en la tensión arterial (sistólica y diastólica) y en el peso.

Eficacia clínica

- a) Variable principal: cambio porcentual en la escala UPDRS III en situación “off”, obtenida de forma “cegada” por un neurólogo independiente a partir de secuencias de vídeo enmascaradas y presentadas de forma aleatoria (véase apartado IV.6.1). Esta escala semi-cuantitativa se obtiene de sumar las puntuaciones de los ítems 18-31 de la UPDRS, y mide la intensidad de los signos clínicos de la enfermedad (rango entre 0-108; los valores más altos indican mayor severidad) (Anexo I). La rigidez es la única manifestación que no puede ser evaluada por medio de imágenes, por lo que la puntuación correspondiente al ítem 22 se añadió según la obtenida en las evaluaciones “abiertas”.

Para evaluar los efectos sobre cada uno de los principales signos de la EP, a partir de la escala UPDRS III en “off” se calcularon las siguientes sub-escalas:

- Temblor (“cegada”): suma de los ítems 20 y 21; rango entre 0-28.
- Rigidez (“no cegada”): suma del ítem 22; rango entre 0-20.
- Bradicinesia (“cegada”): suma de los ítems 23-26; rango entre 0-32.
- Axial (“cegada”): suma de los ítems 28-30 (postura, marcha y estabilidad postural); rango entre 0-12.

Además, se calcularon las puntuaciones correspondientes a cada hemicuerpo:

- Hemicuerpo derecho: suma de las casillas correspondientes al hemicuerpo derecho de los ítems 20-26; rango entre 0-36.
- Hemicuerpo izquierdo: suma de las casillas correspondientes al hemicuerpo izquierdo de los ítems 20-26; rango entre 0-36.

-

b) VARIABLES SECUNDARIAS:

1. Cambio porcentual en la escala UPDRS total en “off” (semi-cuantitativa con rango entre 0-199; los valores más altos indican mayor severidad) (Anexo I). La parte III se corresponde con la obtenida de la evaluación “cegada”.
2. Cambio porcentual en la escala UPDRS II de actividades cotidianas en “off” (semi-cuantitativa con rango entre 0-52; los valores más altos indican mayor discapacidad funcional) (Anexo I).
3. Cambio porcentual en la escala UPDRS IV, que mide las complicaciones relacionadas con la EP y su tratamiento. Esta escala se obtiene de sumar las puntuaciones de los ítems 32-42 de la escala UPDRS (semi-cuantitativa con rango entre 0-23; los valores más altos indican complicaciones más severas) (Anexo I).
4. Cambio porcentual en las escalas UPDRS total y UPDRS III en situación “on” (Anexo I).
5. Cambio en el estadio de Hoehn y Yahr en situación “off” (escala cualitativa ordinal con 8 categorías de 0-5, de menor a mayor severidad) (Anexo II).
6. Cambio absoluto en el tiempo pasado en situación “off”, según el ítem 39 de la escala UPDRS (semi-cuantitativa con rango de 0-4, que corresponde al 0-100% de las horas de vigilia) (Anexo I). A efectos descriptivos, esta variable también se ha categorizado en 3 valores: “No tiempo off” (0), “ \leq 50% de vigilia” (1-2) y “ $>$ 50% de vigilia” (3-4).
7. Cambio absoluto y relativo en la escala de disquinesias CAPIT en situación “on” (semi-cuantitativa con rango de 0-5, de menor a mayor severidad y/o duración) (Anexo V). A efectos descriptivos, esta variable también se ha categorizado en 3 valores: “Ausentes o leves” (0-1’5), “Moderadas” (2-3) y “Severas” (3’5-5).
8. Cambio absoluto en la escala de Schwab y England en situación “off” (semi-cuantitativa con rango entre 0-100; los valores más bajos indican mayor limitación funcional) (Anexo III).
9. Cambio absoluto en el índice de Barthel en situación “off” (semi-cuantitativa con rango entre 0-100; los valores más bajos indican mayor limitación funcional) (Anexo IV).
10. Cambio porcentual en la dosis equivalente de levodopa (véase apartado IV.6.1).

11. Cambio absoluto en las diferentes pruebas neuropsicológicas (véase apartado IV.6.2).
12. Cambio porcentual en el cuestionario de calidad de vida PDQ-39 (escala semi-cuantitativa con rango entre 0-156; los valores más altos indican peor calidad de vida) (Anexo IX).
13. Impresión Clínica Global de los pacientes, expresada como frecuencia relativa de cada una de las 3 categorías: “peor”, “igual” o “mejor” respecto a su situación prequirúrgica.

Efectos neuroquímicos (véase apartado IV.7.1).

- a) Variable principal: cambio porcentual en el valor Ki medio de putamen y caudado.
- b) Variables secundarias: Cambio porcentual en el valor Ki de cada área volumétrica considerado de forma separada los hemisferios basalmente más o menos afectados por la enfermedad, así como considerando conjuntamente todos los hemisferios como unidad de análisis.

IV.9.2.- VARIABLES INDEPENDIENTES.-

1. Sexo (cualitativa nominal).
2. Edad: expresada en años (cuantitativa).
3. Tiempo de evolución de los síntomas de la EP: expresado en años (cuantitativa).
4. Valor prequirúrgico de la escala UPDRS III en “off” obtenida de forma “cegada” (semi-cuantitativa) (véase apartado IV.9.1).
5. Respuesta prequirúrgica a la levodopa: porcentaje de mejoría (reducción) en la escala UPDRS III prequirúrgica al pasar de la situación “off” a la situación “on” durante la realización de un “test de levodopa” (cuantitativa).
6. Valor prequirúrgico del resto de variables clínicas secundarias (apartado IV.9.1).
7. Valor Ki prequirúrgico de cada área volumétrica de interés: putamen y caudado de cada hemisferio (cuantitativa) (véase apartado IV.7.1).
8. Índice de asimetría basal: razón entre el valor Ki medio del estriado menos afectado respecto al más afectado por la enfermedad.
9. Integridad histológica del CC: variable cualitativa ordinal formada por 5 categorías (0-4), de menor a mayor integridad del fragmento estudiado (véase apartado IV.8 y **figura IV.4**).

IV.10.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO.-

En primer lugar se ha realizado una exposición descriptiva de las **variables prequirúrgicas** del estudio. Para las variables cuantitativas se han utilizado resúmenes numéricos (media, desviación estándar y rango de valores) y, en algunos casos, diagramas de cajas. La distribución de cada variable ha sido evaluada mediante la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov para una muestra. Para las variables categóricas se han utilizado tablas de frecuencias (absolutas y relativas) y, en algún caso, gráfico de sectores. Se han comparado las características de los pacientes de cada sub-estudio mediante la prueba U de Mann-Whitney (variables cuantitativas) y la prueba exacta de Fisher (variables dicotómicas). Posteriormente se ha estudiado la correlación entre las distintas variables prequirúrgicas, primero de forma bivalente (mediante el coeficiente de correlación de Spearman, prueba U de Mann-Whitney o prueba exacta de Fisher), y en algún caso de forma multivalente (regresión lineal múltiple).

Con respecto a la **variable principal de eficacia clínica** (UPDRS III en “off” evaluada de forma “cegada”), se ha estudiado en primer lugar la correlación entre esta escala (y sus correspondientes sub-escalas) y las puntuaciones obtenidas en las evaluaciones “abiertas”, calculando los coeficientes de correlación de Spearman. Los cambios individuales en esta variable principal se han expuesto mediante gráficos de perfil, indicando el porcentaje alcanzado respecto a la puntuación basal en cada momento evolutivo. Posteriormente se ha mostrado, en una tabla de frecuencias, el número de pacientes que han alcanzado en cada momento distintos niveles de cambio, considerando como “mejoría importante” una reducción $\geq 33\%$ en esta escala. Para el análisis conjunto de los cambios en la variable principal de eficacia clínica se ha aplicado un modelo lineal para medidas repetidas (análisis de la varianza o ANOVA), considerando como evaluaciones fundamentales las correspondientes a los 6 y 12 meses tras el trasplante.

Para exponer los cambios en las **variables clínicas** cuantitativas, tanto principal como secundarias, se han calculado nuevas variables que expresan la “magnitud del cambio” (absoluto o relativo, dependiendo de cada variable) a los 6 y 12 meses tras la cirugía. La distribución de valores de estas variables se ha resumido mediante su media, desviación estándar y rango; y se ha aplicado la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov para una muestra. Los valores pre- y postquirúrgicos de cada variable cuantitativa se han comparado en los principales momentos evolutivos mediante la prueba de Wilcoxon para muestras relacionadas. Las variables clínicas categóricas se han dicotomizado, y las distribuciones de frecuencias antes y después de la cirugía se han comparado mediante la prueba exacta de Fisher.

Con respecto a las **variables neuroquímicas** obtenidas mediante PET, se han expuesto en primer lugar los cambios individuales en cada área volumétrica al año del trasplante. Para el análisis conjunto, se han calculado nuevas variables que expresan la “magnitud del cambio” (relativo), considerando como unidad de análisis tanto los pacientes como sus correspondientes hemisferios. Se han comparado los valores Ki pre- y postquirúrgicos de cada variable mediante la prueba de Wilcoxon para muestras relacionadas. Finalmente, se ha realizado un estudio de correlación entre los cambios en las distintas variables neuroquímicas y en la variable principal de eficacia clínica, utilizando para ello gráficos de dispersión y calculando los correspondientes coeficientes de correlación de Spearman.

Por último, se han estudiado los **factores pronósticos prequirúrgicos** relacionados con los efectos clínicos y neuroquímicos. Para cada variable resultado se ha realizado un análisis bivalente en cada momento evolutivo con las principales variables prequirúrgicas, utilizando gráficos de dispersión y calculando los coeficientes de correlación de Spearman. Posteriormente, se ha realizado un análisis multivariante mediante regresión lineal múltiple, introduciendo en el modelo aquellas variables prequirúrgicas que mostraron asociación en el análisis bivalente ($p \leq 0'1$). Se ha utilizado un método de selección automática “paso a paso”, teniendo en cuenta las posibles interacciones entre las principales variables independientes y la variable “subestudio”. Cada modelo multivariante ha incluido finalmente el mínimo número de

variables significativas con las que se ha obtenido el máximo coeficiente de determinación.

Para todas las comparaciones bivariantes se han utilizado pruebas estadísticas no paramétricas de dos colas, considerando como significativo un valor $p < 0'05$. El estudio estadístico, tanto descriptivo como analítico, se ha realizado con el programa informático SPSS (*Statistical Package for Social Sciences*) en su versión 11.5.



RESULTADOS

V.1.- CARACTERÍSTICAS PREQUIRÚRGICAS.-

V.1.1.- Descripción general de los pacientes.-

En el estudio han participado 14 pacientes formando parte de dos cohortes, reclutadas e intervenidas en diferentes tiempos (véanse apartados IV.4 y IV.5):

- a) Primer sub-estudio (A): 6 pacientes, denominados A1-A6.
- b) Segundo sub-estudio (B): se seleccionaron 8 pacientes, pero el cuarto paciente intervenido no fue finalmente trasplantado: tras la extirpación del CC se apreció que este era muy fibroso, con escaso parénquima viable. Los 7 pacientes trasplantados se han denominado B1-B7.

Variables sociodemográficas y clínicas.-

En las **tablas V.1 y V.2** se representan las principales características prequirúrgicas de los 13 pacientes trasplantados (véase también la **tabla V.11** donde se exponen las sub-escalas correspondientes a los principales signos clínicos de la EP). La distribución de cada una de las variables continuas recogidas no difiere significativamente de la distribución normal (prueba de Kolmogorov-Smirnov para una muestra).

En resumen, los pacientes incluidos son de ambos sexos, con una edad media de 52 años. En el momento de la intervención, los síntomas de la EP estaban presentes una media de 11 años, encontrándose la mayoría de los pacientes en un estadio avanzado (el 77% se encontraba en estadio 4 de Hoehn y Yahr en situación “off”). La EP se inició a los 41 años de media (entre 35-48 años), pudiendo clasificarse como “EP de inicio precoz” (< 45 años) en 11 de los 13 pacientes. Todos ellos presentaban fluctuaciones motoras, con periodos “off” de duración variable, aunque en su mayoría no ocupaban más de la mitad de las horas de vigilia. Los signos predominantes en estos periodos fueron la bradicinesia y la rigidez (**tabla V.11**); sólo un paciente presentaba temblor intenso (paciente A1). Todos los pacientes mostraron una buena respuesta a la levodopa, con una mejoría media del 70% (entre el 51 y el 93%) en el “test de levodopa”. El 69% de los pacientes no tenían disquinesias, o eran de leve intensidad; solo una paciente presentaba disquinesias severas en situación “on” antes de la cirugía (A4). La dosis equivalente de levodopa prequirúrgica era de 1044 mg/día (entre 500-1868).

| VARIABLES cuantitativas n = 13 (* n = 7) | media | DE | rango (mín.-máx.) |
|--|---------|---------|-------------------|
| Edad (años) | 52 | 4'96 | 43-61 |
| Tiempo de evolución (años) | 11 | 3'97 | 7-18 |
| Respuesta a levodopa (%) | 70'46 | 11'72 | 51-93 |
| UPDRS total en "off" (0-199) | 72'23 | 23'40 | 46-130 |
| UPDRS II en "off" (0-52) | 20'77 | 6'60 | 12-35 |
| UPDRS III en "off" cegada (0-108) | 42'15 | 15'12 | 22-78 |
| UPDRS total en "on" (0-199) | 28'77 | 16'26 | 9-76 |
| UPDRS III en "on" (0-108) | 13'38 | 8'80 | 2-38 |
| UPDRS IV (0-23) | 8'38 | 2'96 | 4-15 |
| Tiempo en "off" (0-4) | 1'69 | 0'63 | 1-3 |
| Disquinesias CAPIT (0-5) | 0'38 | 0'65 | 0-2 |
| Schwab y England en "off" (0-100) | 51'54 | 22'67 | 20-80 |
| Índice de Barthel en "off" (0-100) * | 65'71 | 18'58 | 35-85 |
| Dosis equivalente levodopa (mg/día) | 1044 | 444'08 | 500-1868 |
| PDQ-39 (0-156) * | 73'86 | 20'20 | 32-92 |
| Valor Ki medio putamen* | 0'00492 | 0'00084 | 0'00395- 0'00580 |
| Valor Ki medio caudado* | 0'00945 | 0'00165 | 0'00700- 0'01080 |
| Índice de asimetría* (Ki medio estriado mejor / estriado peor) | 1'26 | 0'17 | 1'04-1'49 |

Tabla V.1.- Principales características prequirúrgicas de los pacientes intervenidos (variables cuantitativas). Véase descripción de las variables en el apartado IV.9. * n = 7 (resto n = 13). Abreviaturas.- DE: desviación estándar; mín.: mínimo; máx.: máximo; para otras abreviaturas véase apartado X.

| VARIABLES categóricas | frecuencia absoluta | frecuencia relativa |
|--|---------------------|---------------------|
| n = 13 | | |
| Sexo: | | |
| - Varón | 7 | 54 % |
| - Mujer | 6 | 46 % |
| Estadio de Hoehn y Yahr en "off": | | |
| - 3 | 3 | 23 % |
| - 4 | 10 | 77 % |
| Tiempo en "off" en categorías: | | |
| - No | 0 | |
| - ≤ 50% vigilia (1-2) | 12 | 92 % |
| - > 50% vigilia (3-4) | 1 | 8 % |
| Disquinesias CAPIT en categorías: | | |
| - Ausentes o leves (0-1'5) | 9 | 69 % |
| - Moderadas (2-3) | 3 | 23 % |
| - Severas (3'5-5) | 1 | 8 % |
| Integridad histológica del CC: | | |
| - 0 | 1 | 8 % |
| - 1+ | 3 | 23 % |
| - 2+ | 3 | 23 % |
| - 3+ | 4 | 31 % |
| - 4+ | 2 | 15 % |

Tabla V.2.- Principales características prequirúrgicas de los pacientes intervenidos (variables categóricas). Véase descripción de las variables en el apartado IV.9.

PET con ¹⁸F-dopa.-

Los 7 pacientes intervenidos que se estudiaron mediante PET (B1-B7) mostraron un patrón característico en la recaptación de ¹⁸F-dopa, con una reducción más marcada en el putamen respecto al caudado, y una asimetría interhemisférica variable (**tabla V.1**). La mayoría de los pacientes tenían el estriado izquierdo más afectado por la enfermedad. Sólo los pacientes B5 y B6 tenían más afectado el estriado derecho, siendo los que presentaban un mayor índice de asimetría entre ambos hemisferios (véase también **tabla V.16**).

Histología del CC.-

En cuanto a la integridad histológica del CC (**tabla V.2 y figura V.1**), sólo uno de los 13 pacientes intervenidos tenía ausencia de elementos TH positivos en el fragmento estudiado (A3). En la escala cualitativa de 0 a 4, la moda estadística fue 3+ (4 de 13 pacientes). El paciente que no fue trasplantado por presentar un CC muy fibroso, mostró también una aceptable integridad tisular en el estudio histológico (3+); sin embargo en este caso se estudió el CC completo, en vez del pequeño fragmento periférico analizado en los pacientes trasplantados.

No se han encontrado cuerpos de Lewy ni depósitos de α -sinucleína en ninguno de los 8 CC analizados específicamente (pacientes seleccionados para el segundo sub-estudio).

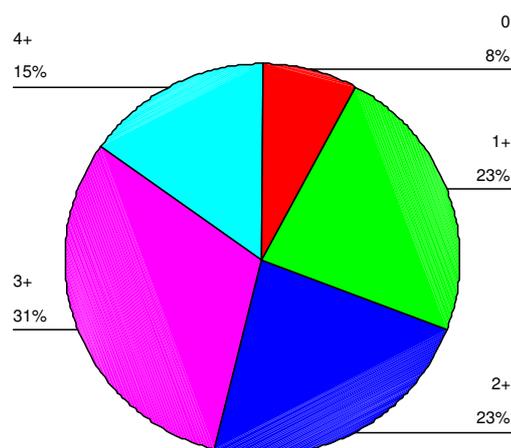


Figura V.1.- Integridad histológica del CC: frecuencia relativa de cada categoría en la serie de 13 pacientes trasplantados (véase también tabla V.2).

V.1.2.- Comparación entre los pacientes de cada sub-estudio.-

Los criterios de selección expuestos en el apartado IV.2 son válidos para todos los pacientes, aunque la edad límite fue algo más restrictiva para los pacientes del segundo sub-estudio (60 años en vez de 65) (véase apartado IV.4). A pesar de ello, no han existido diferencias estadísticamente significativas en la distribución de la edad comparando ambos grupos (prueba no paramétrica U de Mann-Whitney). Tampoco se han encontrado diferencias significativas mediante este test en el resto de las variables clínicas cuantitativas expuestas en la **tabla V.1**.

En cuanto a las variables categóricas (**tabla V.2**), tampoco hay diferencias significativas entre ambos grupos en el sexo, tiempo en “off” ($\leq 2/ > 2$), disquinesias CAPIT ($\leq 1'5/ > 1'5$), ni en la integridad histológica del CC ($\leq 2/ > 2$) (considerando estas variables como dicotómicas; prueba exacta de Fisher). En cuanto al estadio de Hoehn y Yahr en “off”, existe una tendencia hacia una mayor proporción de pacientes en estadio 4 en el segundo sub-estudio (el 100%, respecto al 50% en el primer sub-estudio), aunque no alcanzó significación estadística en la prueba de Fisher ($p = 0'07$). Además, como se ha dicho, tampoco hubo diferencias significativas en el resto de escalas que miden la severidad clínica o funcional de la EP entre ambos grupos.

V.1.3.- Asociación entre las variables prequirúrgicas.-

Variables clínicas cuantitativas.-

En la **tabla V.3** se exponen las correlaciones entre las principales variables clínicas cuantitativas (coeficiente de correlación no paramétrico de Spearman). Los hallazgos más relevantes son los siguientes:

- a) Como era de esperar, existe correlación lineal estadísticamente significativa entre las principales escalas que evalúan las manifestaciones clínicas de la EP, tanto en “off” como en “on”. Las escalas funcionales (UPDRS II, Schwab y England e índice de Barthel) en situación “off” también están relacionadas entre sí (datos no mostrados).
- b) La edad y el tiempo de evolución de la EP (estrechamente vinculadas) condicionan la puntuación en las principales sub-escalas de la UPDRS en situación “off” y en el cuestionario de calidad de vida PDQ-39. Sin embargo, tras eliminar la confusión mediante análisis multivariante se encuentra que:
 - Las puntuaciones en las escalas UPDRS II y UPDRS III están condicionadas principalmente por el tiempo de evolución de la enfermedad de forma directamente proporcional ($p = 0'004$ y $0'014$ respectivamente).
 - La calidad de vida está condicionada por la edad de los pacientes, siendo peor a mayor edad ($R^2 = 0'839$, $p = 0'004$). No existió correlación significativa entre la calidad de vida y las manifestaciones clínicas de la

enfermedad, si bien la muestra estudiada con el cuestionario PDQ-39 ha sido pequeña (n = 7).

- c) La intensidad de la respuesta a la levodopa no parece estar relacionada en nuestros pacientes con la edad, el tiempo de evolución de la enfermedad, ni con la severidad de las manifestaciones en situación “off”.
- d) La dosis equivalente de levodopa prequirúrgica está relacionada de forma directa con la incapacidad funcional de los pacientes en situación “off”. Esta asociación podría ser un reflejo de la práctica habitual en la prescripción del tratamiento farmacológico, de tal forma los pacientes con periodos “off” más incapacitantes reciben dosis más altas de medicación con el fin de reducir el número y duración de estos periodos.

VARIABLES cuantitativas

n = 13 († n = 7)

| | Edad | Tiempo de evolución | Respuesta a levodopa | UPDRS II "off" | UPDRS III "off" | UPDRS III "on" | Tiempo en "off" | Disquinesias CAPIT | Dosis eq. levodopa | PDQ-39† |
|-------------------------------|----------------|---------------------|----------------------|----------------|-----------------|----------------|-----------------|--------------------|--------------------|---------|
| Edad | 1 | | | | | | | | | |
| Tiempo de evolución | 0'789** | 1 | | | | | | | | |
| Respuesta a levodopa | - 0'008 | - 0'037 | 1 | | | | | | | |
| UPDRS II "off" | 0'581* | 0'786** | - 0'147 | 1 | | | | | | |
| UPDRS III "off" (cegada) | 0'518 | 0'698** | - 0'253 | 0'942** | 1 | | | | | |
| UPDRS III "on" | 0'121 | 0'315 | - 0'802** | 0'530 | 0'661* | 1 | | | | |
| Tiempo en "off" | - 0'019 | - 0'118 | 0'155 | - 0'155 | - 0'161 | - 0'143 | 1 | | | |
| Disquinesias CAPIT | 0'415 | 0'147 | - 0'258 | 0'205 | 0'187 | 0'159 | - 0'057 | 1 | | |
| Dosis equivalente de levodopa | 0'171 | 0'396 | 0'250 | 0'595* | 0'511 | 0'077 | - 0'173 | - 0'361 | 1 | |
| PDQ-39† | 0'757* | 0'909** | - 0'536 | 0'505 | 0'179 | 0'414 | 0 | 0'111 | - 0'250 | 1 |

Tabla V.3.- Correlaciones entre las principales variables cuantitativas prequirúrgicas de los pacientes trasplantados: en cada casilla se indica el coeficiente de correlación rho (r) de Spearman. Signo +: directamente proporcional. Signo -: inversamente proporcional. En rojo: correlaciones estadísticamente significativas (* p ≤ 0'05; ** p ≤ 0'01). En negro: la correlación no alcanza significación estadística (error α > 5%). † n = 7 (resto n = 13). Abreviaturas. - Eq.: equivalente; para otras abreviaturas véase apartado X.

Variables clínicas cualitativas.-

En cuanto a las variables prequirúrgicas categóricas, en la **tabla V.4** se exponen las principales diferencias prequirúrgicas por sexos. En resumen, los varones estaban funcionalmente más afectados y tomaban una mayor dosis de medicación, sin existir diferencias estadísticamente significativas en el resto de variables clínicas.

| Sexo ▼ | Estadio de Hoehn y Yahr en “off” | Schwab y England en “off” | Dosis equivalente levodopa (mg/día) |
|--------------------------------|---|----------------------------------|--|
| - Varón | Estadio 4: 100% | 38'57 (20'35) | 1311 (432) |
| - Mujer | Estadio 3: 50% Estadio 4: 50% | 66'67 (15'05) | 733 (184) |
| Significación de la diferencia | p = 0'07 ^a | p = 0'025 ^b | p = 0'01 ^b |

Tabla V.4.- Diferencias prequirúrgicas por sexos. En las variables cuantitativas se indica: media (D.E.). ^a Test exacto de Fisher. ^b Test U de Mann-Whitney.

Como era de esperar, el estadio de Hoehn y Yahr en “off” dicotomizado ($\leq 3 / > 3$) se asoció de forma significativa con el resto de escalas motoras y funcionales en situación “off”. Asimismo, se encontró correlación directa con el tiempo de evolución de la enfermedad ($p = 0'017$) y con la dosis de medicación ($p = 0'028$) (prueba U de Mann-Whitney).

PET con ¹⁸F-dopa.-

En los 7 pacientes trasplantados estudiados mediante PET con ¹⁸F-dopa (B1-B7) no se ha encontrado correlación significativa entre los valores Ki medios prequirúrgicos y la principal variable clínica (UPDRS III en “off” obtenida de forma “cegada”) (prueba de correlación de Spearman) (**tabla V.5**).

Tampoco ha existido asociación significativa con la prueba cronometrada de los miembros superiores en situación “off” (Anexo VI), considerando el tiempo medio invertido en realizar la tarea con ambas manos. La relación entre esta prueba cronometrada y la escala UPDRS III ha sido inversa a la esperada, incluso alcanza significación estadística para la sub-escala de bradicinesia ($r = - 0'883$; $p = 0'008$), por

lo que en realidad no es una buena medida de la disfunción motora relacionada con la enfermedad en este grupo de pacientes.

De igual forma, tampoco se ha encontrado correlación estadísticamente significativa entre los valores Ki medios prequirúrgicos y otras variables independientes como la edad, el tiempo de evolución de la enfermedad o la integridad histológica del CC (datos no mostrados).

Se han estudiado las mismas correlaciones considerando como unidad de análisis los 14 hemisferios y los correspondientes hemicuerpos contralaterales de estos pacientes (**tabla V.6**). De esta forma, aunque tampoco se alcanza significación estadística al nivel α prefijado, se observa una clara tendencia hacia una asociación inversamente proporcional entre el valor Ki medio de cada estriado y la sub-escala UPDRS III en “off” correspondiente al hemicuerpo contralateral ($r = -0.515$; $p = 0.06$). El resto de correlaciones bivariantes estudiadas tampoco han sido estadísticamente significativas.

Cuando se estudian por separado los hemisferios más afectados ($n = 7$) y los menos afectados ($n = 7$) de cada paciente (**tabla V.7**), únicamente en éstos últimos existe asociación estadísticamente significativa entre el valor Ki del putamen y la sub-escala motora contralateral ($r = -0.775$; $p = 0.041$).

Histología del CC.-

La integridad histológica del fragmento del CC analizado no se asoció de forma estadísticamente significativa con ninguna de las variables cuantitativas ni cualitativas expuestas, aunque se observó una tendencia hacia una mejor histología a menor edad ($r = -0.446$; $p = 0.127$).

| VARIABLES N = 7 pacientes | UPDRS III en "off" ("cegada") | Prueba cronome- trada del M.S. en "off" (media) | Ki medio putamen | Ki medio caudado |
|--|-------------------------------------|---|---------------------|---------------------|
| UPDRS III en "off" ("cegada") | 1 | | | |
| Prueba cronometrada del M.S. en "off" (media) | - 0'357 | 1 | | |
| Ki medio putamen | - 0'378 | 0'595 | 1 | |
| Ki medio caudado | 0'179 | 0 | 0'360 | 1 |

Tabla V.5.- Correlación entre los valores Ki medios prequirúrgicos y las principales variables clínicas: en cada casilla se indica el coeficiente de correlación rho (r) de Spearman. Signo +: directamente proporcional. Signo -: inversamente proporcional. Ninguna de las correlaciones mostradas alcanza significación estadística al nivel $p \leq 0'05$. Abreviaturas.- M.S.: miembro superior; para otras abreviaturas véase apartado X.

| VARIABLES n = 14 hemisferios | UPDRS III hemisferio en "off" ("cegada") | Prueba crono- metrada del M.S. en "off" | Ki putamen | Ki caudado | Ki medio estriado |
|--|---|---|----------------|----------------|----------------------|
| UPDRS III hemisferio en "off" ("cegada") (0-36) | 1 | | | | |
| Prueba cronometrada del M.S. en "off" | - 0'396 | 1 | | | |
| Ki putamen | - 0'440 | 0'164 | 1 | | |
| Ki caudado | - 0'393 | 0'179 | 0'626* | 1 | |
| Ki medio estriado | - 0'515† | 0'235 | 0'841** | 0'908** | 1 |

Tabla V.6.- Correlación entre los valores Ki (considerando los hemisferios como unidad de análisis) y las principales variables clínicas (considerando los hemisferios contralaterales). Véase la leyenda de la **tabla V.5**. En rojo: correlaciones estadísticamente significativas (* $p \leq 0'05$; ** $p \leq 0'01$). En negro: la correlación no alcanza significación estadística (error $\alpha > 5\%$); † $p = 0'06$. Abreviaturas.- Véase **tabla V.5**.

| VARIABLES n = 7 hemisferios | Ki putamen | Ki caudado | Ki medio estriado |
|---|-----------------|------------|----------------------|
| Hemisferios "peores": UPDRS III hemisferio en "off" ("cegada") (0-36) | - 0'144 | - 0'250 | - 0'179 |
| Prueba cronometrada del M.S. en "off" | - 0'082 | - 0'108 | 0'108 |
| Hemisferios "mejores": UPDRS III hemisferio en "off" ("cegada") (0-36) | - 0'775* | - 0'198 | - 0'739† |
| Prueba cronometrada del M.S. en "off" | 0'487 | 0'126 | 0'595 |

Tabla V.7.- Correlaciones considerando por separado los hemisferios más afectados (n = 7) y los menos afectados (n = 7) de cada paciente. Véase la leyenda de las **tablas V.5 y V.6**. Abreviaturas.- Véase **tabla V.5**.

V.2.- VIABILIDAD TÉCNICA Y SEGURIDAD.-

V.2.1.- Viabilidad técnica.-

Los 14 pacientes seleccionados fueron intervenidos quirúrgicamente, pero el cuarto paciente del segundo sub-estudio no llegó a ser trasplantado: tras la extirpación del CC se apreció macroscópicamente que éste era muy fibroso, con escaso parénquima viable. El trasplante intraestriatal de agregados celulares del CC se completó en los restantes 13 pacientes. Como incidencia reseñable, el paciente A5 fue trasplantado en el hemisferio izquierdo con menos del 30% de los agregados celulares previstos, debido a problemas técnicos durante el procedimiento. Para mantener el “cegamiento”, esta circunstancia fue desconocida por los neurólogos evaluadores hasta finalizar el primer año de seguimiento.

En la RM craneal realizada durante la primera semana tras el trasplante se apreciaron en todos los pacientes los trayectos de la cánula hacia ambos putámenes (y hacia la cabeza de ambos núcleos caudados en los pacientes A5 y A6) (véase apartado IV.5.2 y **figura IV.3**). A excepción de la paciente B6, que requirió hospitalización prolongada (véase más adelante), el resto de los pacientes fueron dados de alta durante la primera semana tras el procedimiento quirúrgico.

V.2.2.- Incidencia de acontecimientos adversos.-

En la **tabla V.8** se reseñan los acontecimientos adversos que han requerido tratamiento médico o quirúrgico específico, estén o no directamente relacionados con el procedimiento.

Han ocurrido 2 complicaciones intracraneales, una de ellas grave: la paciente B6 sufrió un infarto lacunar localizado en la cápsula interna derecha en el postoperatorio inmediato, quedando con una hemiplejía izquierda como secuela permanente. Tras un ingreso hospitalario prolongado y tratamiento rehabilitador intensivo pudo volver a su domicilio, aunque con importante incapacidad funcional y precisando silla de ruedas. Debido a las secuelas motoras y funcionales, esta paciente ha sido excluida del análisis conjunto de eficacia clínica, si bien se considerará de forma individualizada su evolución respecto a la EP y los estudios de neuroimagen funcional.

| Complicaciones | Tiempo tras cirugía | Pacientes | Secuelas |
|---|--------------------------------------|-----------|--------------|
| Inmediatas (n = 13): | | | |
| - Edema latero-cervical | 1 ^{er} día | A6; B5 | No |
| - Infarto cerebral lacunar establecido | 1 ^{er} día | B6 | Hemiplejia |
| - Hemorragia cortical reversible | 1 ^{er} día | B7 | No |
| - Neumonía nosocomial | 3 ^{er} día | A3 | No |
| Diferidas 1^{er} año (n = 13): | | | |
| - Agravamiento HTA | 1 ^{er} mes | B5 | HTA tratada |
| - Cervicobraquialgia reversible | 4 ^o mes | B2 | No |
| - Fractura de húmero (caída) | 7 ^o mes | B6 | No |
| - Fractura de muñeca (caída) | 8 ^o mes | B1 | No |
| - Fractura de escápula (caída) | 10 ^o mes | A3 | No |
| - Fractura de cadera (caída) | 12 ^o mes | A4 | No |
| Diferidas 2^o y 3^{er} años (n = 6): | | | |
| - Agravamiento disquinesias | 2 ^o -3 ^{er} años | A4 | Disquinesias |
| - Luxación de hombro (caída) | 30 ^o mes | A5 | No |

Tabla V.8.- Acontecimientos adversos tras el trasplante de agregados celulares del CC durante el 1^{er} año (n = 13) y hasta el 3^{er} año (n = 6) de seguimiento. Abreviaturas.- HTA: hipertensión arterial.

La paciente B7 presentó una hemorragia cortical hemisférica izquierda de pequeño tamaño, adyacente al orificio de trépano, que se manifestó clínicamente por un leve déficit sensitivo en la mano derecha y una crisis epiléptica en el postoperatorio inmediato. Fue tratada con fármacos anticomiciales durante 3 meses sin recurrencia de crisis. El déficit sensitivo se resolvió sin secuelas en pocas semanas y la hemorragia había desaparecido en una RM craneal de control realizada un mes después.

Dos pacientes (A6 y B5) presentaron edema latero-cervical derecho en relación directa con el procedimiento de extirpación del CC. Esta complicación fue leve y se resolvió espontáneamente en pocos días. El paciente A3 sufrió una neumonía nosocomial manifestada al tercer día de la cirugía, que fue tratada satisfactoriamente con antibióticos.

En cuanto a las complicaciones diferidas, es más difícil establecer su eventual relación con el procedimiento quirúrgico. Hasta 5 de 13 pacientes (38%) sufrieron fracturas o luxaciones en relación con caídas durante el seguimiento, en todos los casos resueltas sin secuelas. Se han analizado posibles factores pre- o postquirúrgicos asociados con esta complicación (excluyendo a la paciente B6), encontrando una relación directa con la edad de los pacientes (este grupo tenía una media de 8 años más; $p = 0'013$). Los pacientes con esta complicación tendieron también a presentar más disquinesias durante toda la evolución, aunque el error α solo es aceptable a los 6 meses del trasplante ($p = 0'052$). No se ha encontrado relación significativa con otras variables prequirúrgicas, ni con otros cambios producidos tras la cirugía.

V.2.3.- Otras variables relacionadas con la seguridad.-

Disquinesias.-

La paciente A4 era la única que presentaba disquinesias severas en situación “on” antes de la cirugía (3'5 puntos sobre un máximo de 5 en la escala CAPIT). Asimismo, en situación “off” predefinida presentaba leves disquinesias en forma de distonía facial y del miembro superior derecho. A partir de los 2 años del trasplante, experimentó un agravamiento en la intensidad de las disquinesias en “on” (4 puntos sobre 5), mientras que la distonía en situación “off” comenzó a afectar también a la región cervical. Esta paciente fue intervenida mediante ECP bilateral del GPi a los 3 años de evolución, con beneficio clínico.

El resto de los pacientes no experimentaron empeoramiento relevante de las disquinesias en “on” (los valores individuales de la escala CAPIT se exponen en las **tablas XII.1** y **XII.2**), ni presentaron disquinesias en situación “off” a lo largo de la evolución (hasta 3 años para los pacientes A1-A6).

Tensión arterial.-

El paciente B5 experimentó un empeoramiento de la hipertensión arterial (HTA) leve que padecía, precisando en los meses siguientes politerapia antihipertensiva para su adecuado control. Salvo este caso, no se han detectado cambios relevantes en las cifras tensionales del resto de los pacientes.

Peso.-

El peso fue controlado sistemáticamente en todos los pacientes del segundo subestudio (B1-B7). Antes de la cirugía, el peso medio fue de 79'8 Kg (65-96 Kg.), con una distribución compatible con la curva normal (prueba de Kolmogorov-Smirnov para una muestra). La paciente B6, que había reducido su actividad física como consecuencia de las secuelas motoras, había ganado al año del trasplante 8'5 Kg. A excepción de la paciente B3 que perdió 5 Kg. en 1 año, el resto de los pacientes había ganado de forma progresiva una media de 3'3 Kg. (1-5 Kg.) al año del trasplante. Este cambio ponderal no se asoció de forma significativa con ninguna variable prequirúrgica, ni con el cambio en otras variables clínicas del estudio, a excepción del producido sobre la dosis de medicación: los pacientes que ganaron más peso al año habían reducido en menor proporción la dosis equivalente de levodopa ($r = 0'886$, $p = 0'019$; prueba de correlación de Spearman).

Funciones neuropsicológicas.-

Globalmente no ha existido deterioro estadísticamente significativo en ninguna de las variables neuropsicológicas estudiadas, que evalúan distintas funciones como la atención, la percepción, la memoria verbal y visual, el lenguaje, las funciones ejecutivas y el nivel de ansiedad (véase también el apartado V.4.3).

V.3.- EFICACIA CLÍNICA: VARIABLE RESULTADO PRINCIPAL.-

En el anexo XII (**tablas XII.1 y XII.2**) se exponen los valores individuales de las principales variables clínicas en los 12 pacientes analizados, antes de la cirugía y a los 3, 6 y 12 meses tras el trasplante. Para los 6 pacientes del primer sub-estudio se incluyen también las evaluaciones a los 18, 24 y 36 meses. Como se ha señalado en el apartado anterior, la paciente B6 ha sido excluida del análisis conjunto de eficacia clínica por haber presentado secuelas neurológicas postquirúrgicas.

La variable principal de eficacia clínica en nuestro estudio ha sido el cambio porcentual en la escala UPDRS III en situación “off”, obtenida de forma “cegada” por un neurólogo independiente a partir de secuencias de vídeo enmascaradas y presentadas de forma aleatoria (véanse apartados IV.6.1 y IV.9.1). Las evaluaciones fundamentales para el análisis han sido las correspondientes a los 6 y 12 meses tras el trasplante, mientras que las demás han sido útiles para conocer el patrón temporal de los cambios observados.

V.3.1.- Correlación entre las evaluaciones “abiertas” y “cegadas”.-

Se ha analizado la correlación entre la escala UPDRS III en “off” obtenida de forma cegada respecto a la derivada de las evaluaciones abiertas, existiendo una fuerte asociación lineal estadísticamente significativa entre ambas ($r = 0,949$; $p < 0,0001$) (**tabla V.9** y **figura V.2**). Esta asociación se mantiene para las tres sub-escalas “temblor”, “bradicinesia” y “axial” (definidas en el apartado IV.9.1). La diferencia de puntuación media por cada casilla es mayor para la sub-escala “axial” respecto a las sub-escalas “temblor” y “bradicinesia” (**tabla V.9**), si bien esta diferencia no es claramente significativa ($p = 0,163$, ANOVA entre las tres sub-escalas; $p = 0,065$, prueba “t” de Student entre las sub-escalas “temblor” y “axial”).

| ESCALAS en off ▼ | r | p | Cambio medio escala | Cambio medio casilla (0-4) |
|---------------------|-------|----------|---------------------|----------------------------|
| UPDRS III (0-108) | 0'949 | < 0'0001 | - 0'26 | - 0'0098 |
| Temblores (0-28) | 0'934 | < 0'0001 | 0'24 | 0'034 |
| Bradicinesia (0-32) | 0'768 | < 0'0001 | - 0'36 | - 0'045 |
| Axial (0-12) | 0'817 | < 0'0001 | - 0'26 | - 0'088 |

Tabla V.9.- Correlaciones entre la escala UPDRS III en “off” y sus sub-escalas obtenidas de forma “cegada” respecto a las correspondientes derivadas de las evaluaciones abiertas (n = 72). Se muestra el coeficiente de correlación rho (r) de Spearman y su significación estadística. El “cambio medio de cada escala” indica la media de las diferencias entre pares de datos (el signo menos indica un menor valor de la evaluación “cegada”) y su valor máximo es el indicado junto al nombre de cada escala. El “cambio medio por casilla” se ha corregido por el número de casillas de cada escala, y su rango es de 0-4 para todas las escalas.

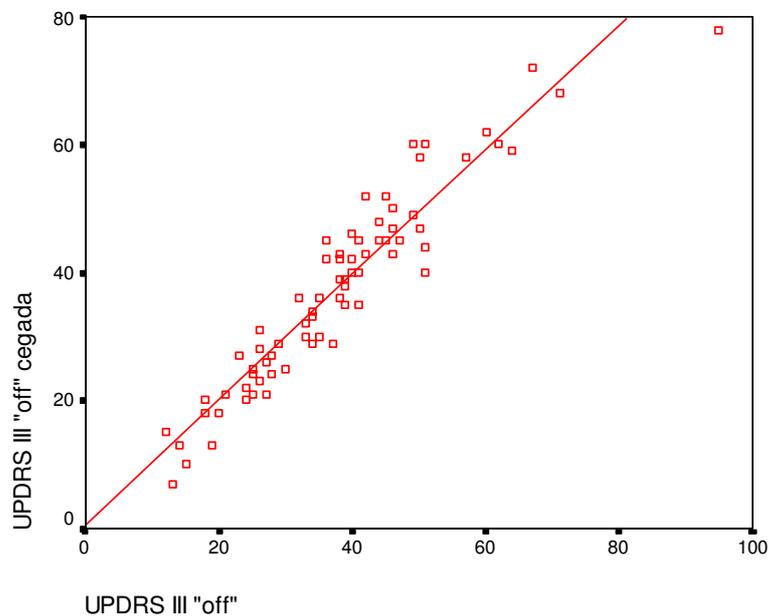


Figura V.2.- Correlación entre la escala UPDRS III en “off” obtenida de forma “cegada” respecto a la derivada de las evaluaciones abiertas (r = 0'949, p < 0'0001; prueba de correlación de Spearman).

V.3.2.- Evolución individual.-

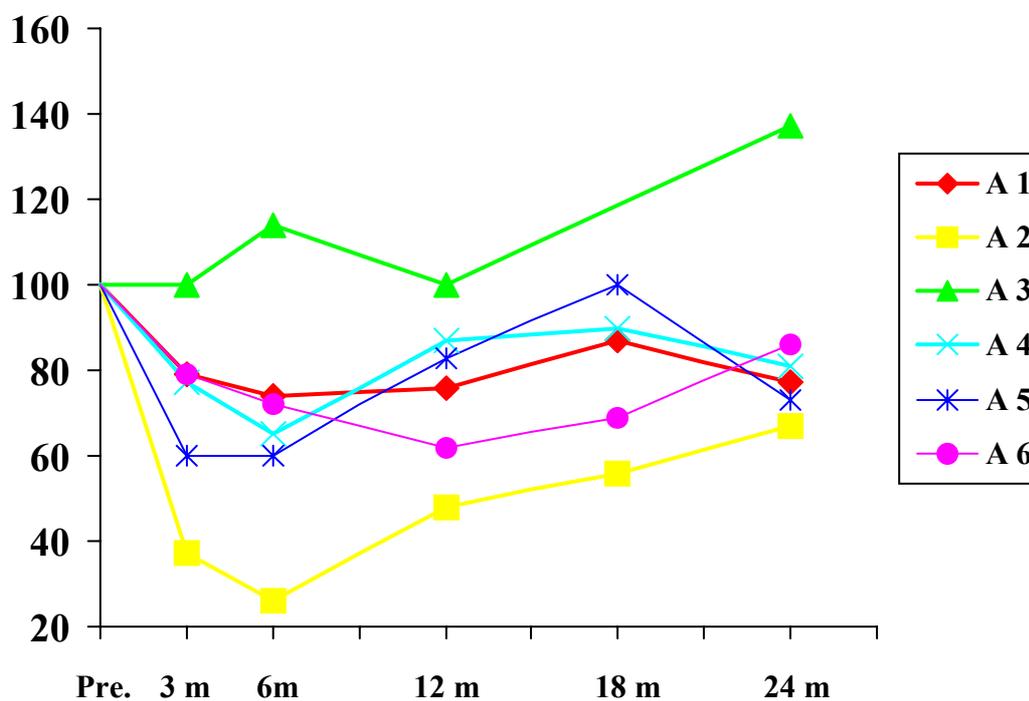
La evolución temporal de la variable resultado principal en cada paciente se expone en la **tabla XII.2** y se representa en las **figuras V.3 y V.4**. Dos pacientes (A3 y B2) no han presentado mejoría motora objetiva tras el trasplante. El resto de los pacientes (83%) han experimentado una mejoría progresiva, máxima a los 6 meses (n = 7) o 1 año (n = 3) tras la cirugía. Posteriormente la puntuación de esta escala ha tendido progresivamente hacia sus valores basales, aunque al año del trasplante continuaban mejor 8 de los 12 pacientes (67%). Los 6 pacientes del primer sub-estudio han sido seguidos durante más tiempo, continuando mejor que basalmente 5 a los 2 años (83%) y 3 a los 3 años (50%).

La magnitud de la mejoría en 10 de los pacientes ha sido variable, oscilando entre el 5-74% a los 6 meses y entre el 7-52% al año del trasplante. En la **tabla V.10** se exponen las frecuencias absolutas y relativas de los pacientes que han alcanzado distintos niveles de mejoría en cada momento evolutivo.

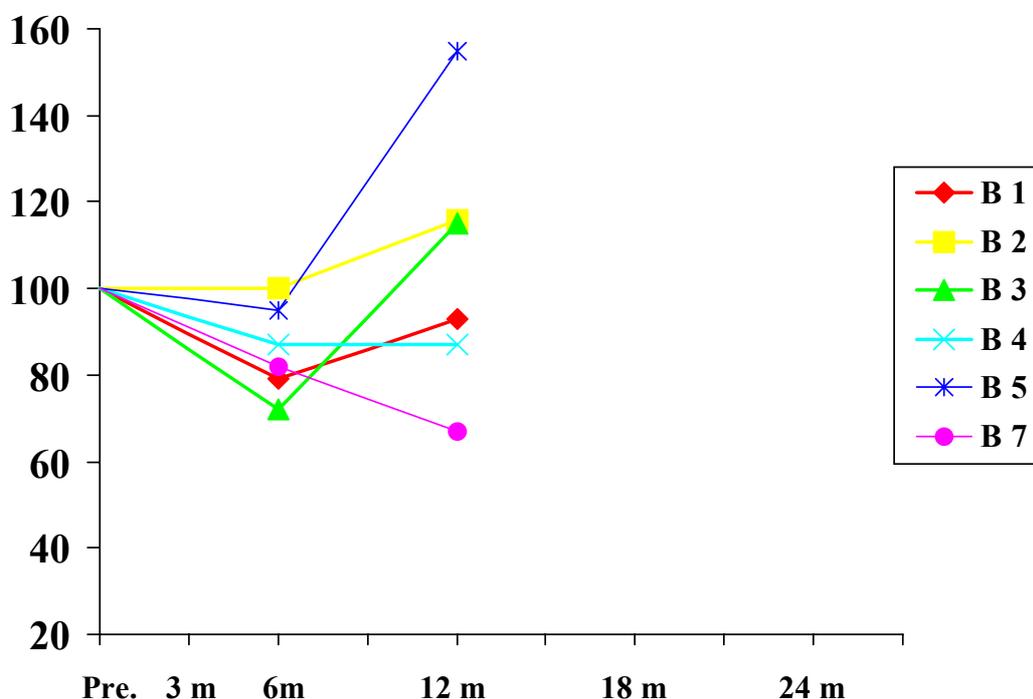
Consideramos como “mejoría importante” una reducción en la escala UPDRS III cegada en “off” de al menos un tercio respecto a su valor basal (aproximadamente la mitad del efecto de una dosis adecuada de levodopa). Con este criterio, 6 de los 12 pacientes (50%) ha presentado “mejoría importante” en algún momento evolutivo:

- La paciente A2 ha sido la única con “mejoría importante” a lo largo de toda la evolución, que se ha mantenido a los 3 años de seguimiento.
- Los pacientes A4 y A5 han presentado “mejoría importante” máxima a los 6 meses.
- Las pacientes A6 y B7 han presentado “mejoría importante” solo en la evaluación de 1 año.
- El paciente B5 ha presentado “mejoría importante” únicamente a los 3 meses.

UPDRS III cegada: % respecto a basal PRIMER SUB-ESTUDIO



UPDRS III cegada: % respecto a basal SEGUNDO SUB-ESTUDIO



Figuras V.3 y V.4.- Evolución de la variable principal de eficacia clínica (cambio porcentual en la escala UPDRS III cegada en “off”) en cada uno de los pacientes del primer sub-estudio (arriba) y del segundo sub-estudio (abajo). Véase Anexo XII. Abreviaturas.- m.: meses; para otras abreviaturas véase apartado X.

| Mejoría UPDRS III off ▼ | 6 meses | 1 año | 2 años | 3 años |
|--------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| - No | 2 (17 %) | 4 (33 %) | 1 (17 %) | 2 (40%) |
| - Leve (0 - 20%) | 3 (25 %) | 4 (33 %) | 2 (33 %) | 1 (20%) |
| - Moderada (20 - 33%) | 4 (33 %) | 1 (9 %) | 2 (33 %) | 1 (20 %) |
| - Importante ($\geq 33\%$) | 3 (25 %) | 3 (25 %) | 1 (17 %) | 1 (20 %) |
| TOTAL: | 12 (100 %) | 12 (100 %) | 6 (100 %) | 5 (100 %) |

Tabla V.10.- Frecuencias absolutas y relativas del número de pacientes que han alcanzado distintos niveles de mejoría a lo largo de la evolución. En rojo se indica la categoría de “mejoría importante” definida como mejoría en la escala UPDRS III cegada en “off” de al menos un tercio respecto a su valor basal.

En todos los pacientes, la mejoría en la escala UPDRS III cegada en “off” estuvo asociada con la reducción en las sub-escalas de “temblor”, “rigidez” (no cegada) “bradicinesia” y “axial” (definidas en el apartado IV.9.1). Únicamente el paciente A1 presentaba temblor severo antes de la cirugía (24 puntos en la evaluación cegada sobre un máximo de 28). Este paciente tuvo un 50% de mejoría sobre el temblor a los 6 meses, manteniendo un 46% de mejoría a los 3 años de seguimiento.

Mención aparte merece la evolución del **paciente A5**, durante cuya intervención se realizaron trayectos quirúrgicos en ambos estriados, pero los agregados celulares solo fueron satisfactoriamente implantados en el lado derecho (véanse apartados IV.5.2 y V.2.1). La evolución de las sub-escalas de la UPDRS III cegada en “off” correspondientes a cada hemisferio (definidas en el apartado IV.9.1) muestran como el hemisferio izquierdo, básicamente más afectado por la enfermedad, ha experimentado una “mejoría importante” a los 6 meses del trasplante, que aún persistía en grado leve a los 18 meses (**figura V.5**). Por el contrario, el hemisferio derecho no ha mejorado a lo largo de la evolución.

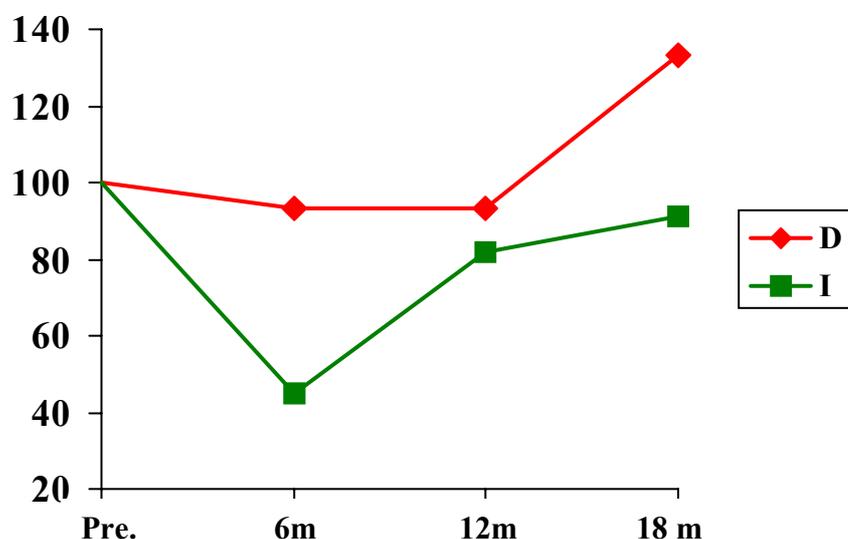
UPDRS III cegada de cada hemicuerpo: % respecto a basal

Figura V.5.- Paciente A5: evolución del porcentaje de cambio en las sub-escalas de la UPDRS III cegada en “off” correspondientes a cada hemicuerpo (ver explicaciones en el texto). Abreviaturas.- D: hemicuerpo derecho; I: hemicuerpo izquierdo; m.: meses; pre.: prequirúrgico.

En la **paciente B6**, la evolución de las principales variables resultado no pudieron ser analizadas conjuntamente con el resto de los pacientes por haber presentado una hemiplejía izquierda, con importante afectación funcional. De forma específica, no fue posible realizar la evaluación cegada de la escala UPDRS III en “off”. Sin embargo, estudiamos la evolución de la sub-escala correspondiente al hemicuerpo derecho obtenida en las evaluaciones abiertas. Este hemicuerpo era el menos afectado por la enfermedad, y experimentó una “mejoría importante” (40%), máxima a los 9 meses del trasplante.

Dos pacientes del primer sub-estudio fueron intervenidos mediante **estimulación cerebral profunda (ECP)** durante el seguimiento a largo plazo:

- El paciente A3, que no obtuvo beneficio clínico tras el trasplante, fue intervenido mediante ECP bilateral del GPi a los 2 años de seguimiento, con importante mejoría clínica.
- La paciente A4, que obtuvo un beneficio máximo del 35% a los 6 meses del trasplante, había vuelto a su situación basal 3 años después, asociando además disquinesias severas en “on”. Fue intervenida mediante ECP bilateral del GPi a los 3 años de seguimiento, con beneficio clínico.

V.3.3.- Análisis conjunto.-

En la **figura V.6** se representa la evolución de la escala UPDRS III cegada en situación “off” en los 12 pacientes analizados (se incluye además la evaluación a los 2 años en los 6 pacientes del primer sub-estudio). La distribución de esta variable en cada momento evolutivo no difiere significativamente de la distribución normal (prueba de Komogorov-Smirnov para una muestra).

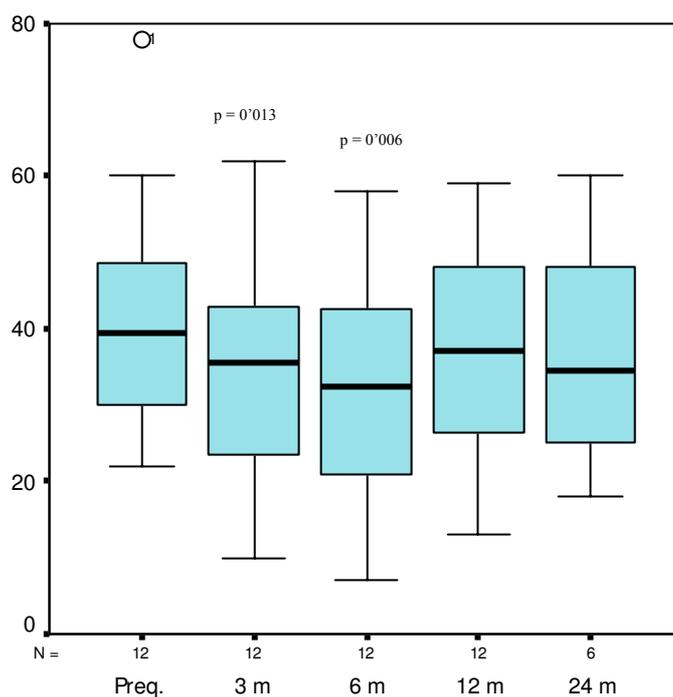


Figura V.6.- Diagrama de cajas representando la evolución de la escala **UPDRS III cegada en “off”**. La línea central de la caja representa la mediana, los límites de la caja señalan los cuartiles 1 y 3, y los “bigotes” alcanzan los valores más extremos que no sobrepasan una distancia intercuartílica desde los límites de la caja. En la distribución prequirúrgica existe un valor atípico (*outlier*) representado por un círculo (paciente A1). A los 3 y 6 meses existe un cambio estadísticamente significativo respecto a la distribución basal (test de Wilcoxon). Abreviaturas.- m.: meses; preq.: prequirúrgico.

A los 3 y 6 meses ha existido una reducción progresiva, estadísticamente significativa, en la puntuación de esta escala ($p = 0'013$ y $0'006$ respectivamente; prueba no paramétrica de Wilcoxon para muestras relacionadas). A los 6 meses se ha alcanzado una mejoría media del 23%, oscilando el rango entre un 14% de empeoramiento y un 74% de mejoría (véase también **tabla V.11**). Al año de evolución no han existido cambios globales estadísticamente significativos, siendo la mejoría media del 9% con un rango entre un 55% de empeoramiento y un 52% de mejoría (**tabla V.12**).

Posteriormente, no se han producido cambios significativos en el grupo de 6 pacientes seguidos durante 3 años, aunque ha existido una marcada variabilidad individual (véase apartado V.3.2).

Cuando se aplica un modelo lineal general para medidas repetidas considerando conjuntamente las evaluaciones a los 6 meses y al año, el cambio global no alcanza significación estadística ($p = 0'116$; ANOVA) (**figura V.7**).

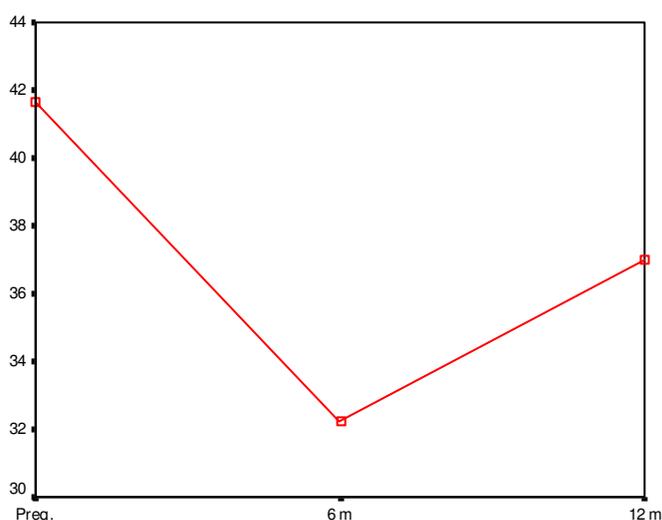


Figura V.7.- Modelo lineal general para medidas repetidas mostrando las medias marginales estimadas de la escala **UPDRS III cegada en “off”** a los 6 y 12 meses del trasplante ($n = 12$; $p = 0'116$, ANOVA). Abreviaturas.- m.: meses; preq.: prequirúrgico.

Sin embargo, cuando se analizan por separado los pacientes de los dos sub-estudios se aprecia una clara diferencia: los pacientes del primer sub-estudio experimentaron una mejoría estadísticamente significativa a los 6 y 12 meses del trasplante ($p = 0'018$; ANOVA), mientras que los cambios globales no alcanzaron significación estadística en los pacientes del segundo sub-estudio (**figura V.8**).

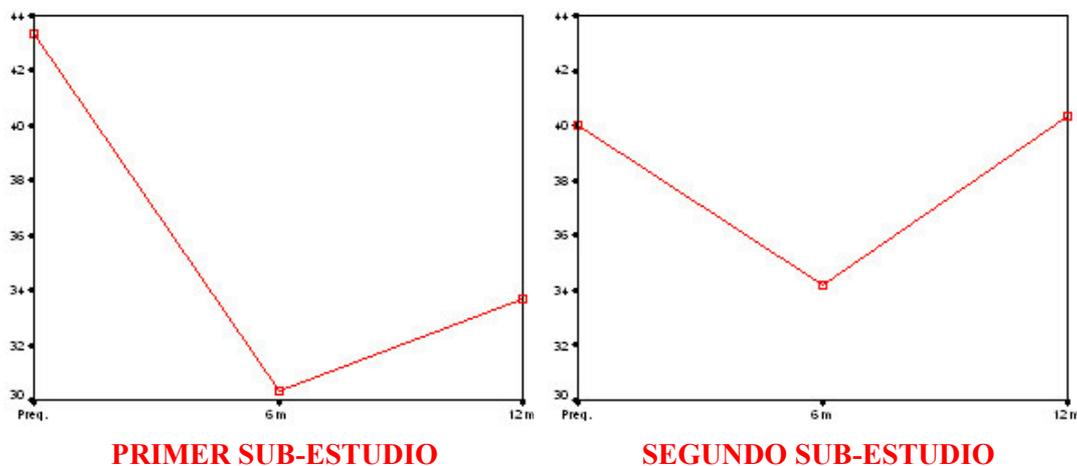


Figura V.8.- Modelo lineal general para medidas repetidas mostrando las medias marginales estimadas de la escala **UPDRS III cegada en “off”** a los 6 y 12 meses del trasplante. Izquierda: primer sub-estudio ($n = 6$; $p = 0'018$, ANOVA). Derecha: segundo sub-estudio ($n = 6$; $p = 0'935$, ANOVA). Abreviaturas.- m.: meses; preq.: prequirúrgico.

Con respecto a las distintas manifestaciones motoras de la EP en situación “off”, en las **tablas V.11** y **V.12** se exponen los valores de las sub-escalas de la UPDRS III correspondientes a temblor, bradicinesia y síntomas axiales (cegadas), así como a rigidez (no cegada), en los 12 pacientes analizados. A los 6 meses del trasplante, las 3 sub-escalas cegadas mejoraron de forma estadísticamente significativa ($p < 0'02$), con una reducción media sobre su valor máximo de un 10% (sub-escala axial), 9% (sub-escala bradicinesia) y 7% (sub-escala temblor). La reducción media en la sub-escala rigidez (no cegada) fue de un 8% sobre su valor máximo, aunque el cambio no alcanzó significación estadística al nivel α prefijado ($p = 0'067$). Al año de evolución solo existió cambio significativo ($p = 0'019$) en la sub-escala axial, que mantuvo el mismo nivel de mejoría.

| Variables cuantitativas ▼ n = 12 (* n = 6) | Basal | 6 MESES | Cambio: (mín; máx) | Cambio: media (DE) | p † |
|--|---------------|----------------|------------------------------|------------------------------|--------------|
| UPDRS total en “off” | 71'42 (24'25) | 55'83 (21'73) | (-65%; 14%) | - 22% (19'66) | 0'006 |
| UPDRS II (A.V.D.) en “off” | 20'67 (6'88) | 17'33 (5'91) | (-46%; 13%) | - 16% (15'93) | 0'009 |
| UPDRS III (motora) cegada en “off” | 41'67 (15'68) | 32'25 (13'86) | (-74%; 14%) | - 23% (22'32) | 0'006 |
| - sub-escala temblor cegada (0-28) | 5'17 (5'24) | 3'08 (3'75) | (-8; 1) | - 2'08 (2'58) | 0'016 |
| - sub-escala rigidez (0-20) | 9'58 (2'84) | 7'92 (3'58) | (-7; 6) | - 1'67 (3'28) | (0'067) |
| - bradicinesia cegada (0-32) | 14'58 (4'36) | 11'67 (5'40) | (-9; 2) | - 2'92 (3'18) | 0'011 |
| - sub-escala axial cegada (0-12) | 5'17 (2'66) | 3'92 (1'56) | (-5; 1) | - 1'25 (1'55) | 0'016 |
| UPDRS total en “on” | 28'75 (16'98) | 22'50 (9'40) | (-56%; 69%) | - 15% (38'74) | NS |
| UPDRS III (motora) en “on” | 13'42 (9'19) | 12'75 (6'66) | (-63%; 122%) | 10% (59'24) | NS |
| UPDRS IV o de complicaciones | 8'25 (3'05) | 5'33 (2'84) | (-80%; 50%) | - 32% (36'11) | 0'01 |
| Estadio de Hoehn y Yahr en “off” | 3'75 (0'45) | 3'29 (0'75) | (-1'5; 0) | - 0'46 (0'58) | 0'034 |
| Tiempo en “off” (item 39 UPDRS) | 1'67 (0'65) | 1'67 (0'78) | (-1; 1) | 0 (0'85) | NS |
| Escala de disquinesias CAPIT | 1'29 (1'01) | 1'04 (0'94) | (-1; 0'5) | - 0'25 (0'50) | NS |
| Escala de Schwab & England “off” | 51'67 (23'68) | 67'50 (18'15) | (-10; 40) | 15'83 (13'11) | 0'006 |
| Índice de Barthel en “off”* | 64'17 (19'85) | 83'33 (12'11) | (5; 30) | 19'17 (9'17) | 0'027 |
| Dosis equiv. de levodopa (mg/día) | 1072 (452) | 1033 (459) | (-30%; 7%) | - 4% (10'53) | NS |
| Escala de calidad de vida PDQ-39 * | 73'17 (22'04) | 65'17 (10'03) | (-33%; 84%) | - 1% (43'27) | NS |

Tabla V.11.- Evolución a los **6 meses** de las variables cuantitativas en los 12 pacientes analizados (* n = 6 para las escalas de Barthel y PDQ-39). Véase la descripción de las variables en el apartado IV.9. Los valores basales y a los 6 meses se expresan como media y desviación estándar (entre paréntesis). El cambio absoluto o relativo (porcentaje) respecto al valor basal se recoge en dos columnas: en la primera se han incluido los valores mínimo y máximo, y en la segunda la media y desviación estándar (entre paréntesis), considerando los valores negativos como reducción y los positivos como incremento. † Valor p obtenido al comparar los valores pre- y postquirúrgicos mediante el test no paramétrico de Wilcoxon para muestras relacionadas: en rojo = cambios estadísticamente significativos; entre paréntesis: próximo a la significación estadística; NS = no significativos. Abreviaturas.- DE: desviación estándar; mín.: mínimo; máx.: máximo; NS: no significativo; para otras abreviaturas véase apartado X.

| Variables cuantitativas ▼ n = 12 (* n = 6) | Basal | 1 AÑO | Cambio: (mín; máx) | Cambio: media (DE) | p[†] |
|--|---------------|---------------|------------------------------|------------------------------|----------------------|
| UPDRS total en “off” | 71'42 (24'25) | 60'83 (23'41) | (-50%; 15%) | - 15% (21'50) | 0'034 |
| UPDRS II (A.V.D.) en “off” | 20'67 (6'88) | 16'83 (7'03) | (-46%; 0%) | - 20% (14'43) | 0'005 |
| UPDRS III (motora) cegada en “off” | 41'67 (15'68) | 37 (14'14) | (-52%; 55%) | - 9% (28'44) | NS |
| - sub-escala temblor cegada (0-28) | 5'17 (5'24) | 4'67 (4'52) | (-4; 4) | - 0'50 (1'93) | NS |
| - sub-escala rigidez (0-20) | 9'58 (2'84) | 8,42 (3'40) | (-5; 3) | - 1'17 (2'48) | NS |
| - bradicinesia cegada (0-32) | 14'58 (4'36) | 13'58 (5'28) | (-9; 10) | - 1 (5'69) | NS |
| - sub-escala axial cegada (0-12) | 5'17 (2'66) | 4 (2'26) | (-4; 1) | - 1'17 (1'47) | 0'019 |
| UPDRS total en “on” | 28'75 (16'98) | 24'25 (11'47) | (-67%; 64%) | - 11% (36'44) | NS |
| UPDRS III (motora) en “on” | 13'42 (9'19) | 12'42 (5'18) | (-100%; 78%) | 1% (47'04) | NS |
| UPDRS IV o de complicaciones | 8'25 (3'05) | 5'83 (2'33) | (-80%; 60%) | - 22% (37'20) | 0'026 |
| Estadio de Hoehn y Yahr en “off” | 3'75 (0'45) | 3'42 (0'82) | (-1'5; 0) | - 0'33 (0'54) | (0'066) |
| Tiempo en “off” (item 39 UPDRS) | 1'67 (0'65) | 1'67 (0'65) | (-1; 1) | 0 (0'60) | NS |
| Escala de disquinesias CAPIT | 1'29 (1'01) | 0'88 (1'13) | (-1; 0'5) | - 0'42 (0'51) | 0'026 |
| Escala de Schwab & England “off” | 51'67 (23'68) | 62'92 (21'16) | (0; 20) | 11'25 (7'42) | 0'004 |
| Índice de Barthel en “off”* | 64'17 (19'85) | 80 (10'49) | (0; 40) | 15'83 (14'63) | 0'043 |
| Dosis equiv. de levodopa (mg/día) | 1072 (452) | 969 (483) | (-43%; 40%) | - 10% (22'41) | (0'059) |
| Escala de calidad de vida PDQ-39 * | 73'17 (22'04) | 55'67 (25'41) | (-53%; 19%) | - 20% (31'62) | NS |

Tabla V.12.- Evolución a los **12 meses** de las variables cuantitativas en los 12 pacientes analizados (* n = 6 para las escalas de Barthel y PDQ-39). Véase la descripción de las variables en el apartado IV.9. Los valores basales y a los 12 meses se expresan como media y desviación estándar (entre paréntesis). El cambio absoluto o relativo (porcentaje) respecto al valor basal se recoge en dos columnas: en la primera se han incluido los valores mínimo y máximo, y en la segunda la media y desviación estándar (entre paréntesis), considerando los valores negativos como reducción y los positivos como incremento. † Valor p obtenido al comparar los valores pre- y postquirúrgicos mediante el test no paramétrico de Wilcoxon para muestras relacionadas: en rojo = cambios estadísticamente significativos; entre paréntesis: próximos a la significación estadística; NS = no significativos. Abreviaturas.- DE: desviación estándar; mín.: mínimo; máx.: máximo; NS: no significativo; para otras abreviaturas véase apartado X.

V.4.- EFICACIA CLÍNICA: VARIABLES SECUNDARIAS.-

V.4.1.- Variables relacionadas con la función motora.-

En las **tablas V.11 y V.12** se representan los valores de las principales variables cuantitativas a los 6 meses y al año del trasplante, junto con la magnitud del cambio y la significación estadística. En la **tabla V.13** se exponen las distribuciones de frecuencias de las principales variables categóricas dicotomizadas. Los hallazgos más destacables son los siguientes:

- La **escala UPDRS total en situación “off”** mejoró significativamente una media del 20% a los 6 meses y del 15% al año del trasplante.
- En **situación “on”** no hubo cambios significativos en las principales escalas motoras (UPDRS total y UPDRS III).
- La **sub-escala UPDRS IV**, que refleja las complicaciones relacionadas con la EP y su tratamiento, mejoró significativamente una media del 32% a los 6 meses y del 22% al año del trasplante.

| Variables categóricas ▼ n = 12 | Basal | 6 meses | 12 meses |
|--|--------------|-----------------|-----------------|
| Estadio Hoehn y Yahr en “off”: | | <i>p</i> = 0'21 | <i>p</i> = 0'67 |
| - ≤ 3 (0-3) | 3 (25%) | 7 (58%) | 5 (42%) |
| - > 3 (4-5) | 9 (75%) | 5 (42%) | 7 (58%) |
| Tiempo en “off” en categorías: | | <i>p</i> ≈ 1 | <i>p</i> = 1 |
| - ≤ 25% vigilia (0-1) | 5 (42%) | 6 (50%) | 5 (42%) |
| - > 25% vigilia (2-4) | 7 (58%) | 6 (50%) | 7 (58%) |
| Disquinesias CAPIT en categorías: | | <i>p</i> = 1 | <i>p</i> ≈ 1 |
| - Ausentes o leves (0-1'5) | 9 (75%) | 9 (75%) | 10 (83%) |
| - Moderadas o severas (2-5) | 3 (25%) | 3 (25%) | 2 (17%) |

Tabla V.13.- Variables categóricas dicotomizadas: distribución por frecuencias absolutas y relativas en los 12 pacientes analizados, basalmente y a los 6-12 meses tras el trasplante. Véase la descripción de las variables en el apartado IV.9. Se indica el valor p obtenido tras comparar las proporciones a los 6 y a los 12 meses con respecto a la distribución basal (test exacto de Fisher).

- d) El **estadio de Hoehn y Yahr en “off”** tratado como variable continua mejoró de forma significativa un promedio de medio punto a los 6 meses del trasplante (rango de 0 a 1’5 puntos), sin embargo al año no alcanzó significación estadística al nivel α prefijado. Aunque la proporción de pacientes que estaban en estadio ≤ 3 se incrementó a los 6 y 12 meses, el cambio global en la distribución de frecuencias no fue estadísticamente significativo.
- e) El **tiempo pasado en situación “off”** se redujo a los 6 meses en un tercio de los pacientes (un máximo del 25% de las horas de vigilia), pero se mantuvo igual en otro tercio y aumentó en el tercio restante (un máximo del 25% de las horas de vigilia). Al año, dos tercios de los pacientes permanecían en “off” el mismo tiempo diario que antes de la cirugía. Globalmente, el conjunto de pacientes no ha experimentado cambios estadísticamente significativos en el ítem 39 de la escala UPDRS. Tampoco existió correlación entre estos cambios y las modificaciones en la dosis de medicación.
- f) Las **disquinesias en “on”** mejoraron progresivamente durante el primer año, de tal forma que a los 12 meses se alcanzó una reducción estadísticamente significativa de medio punto en la escala CAPIT. Siete de los 12 pacientes (58%) tenían al año menos disquinesias en “on” que antes de la cirugía. No existió correlación significativa entre la mejoría en esta escala y la reducción relativa de la dosis equivalente de levodopa. Como se ha comentado en el apartado V.2.3, la única paciente (A4) con disquinesias severas antes de la cirugía, empeoró medio punto en la escala CAPIT a partir de los 2 años de seguimiento.
- g) La **dosis equivalente de levodopa** se redujo progresivamente durante el primer año, de tal forma que a los 12 meses se alcanzó una reducción media del 10%, en el límite de la significación estadística. En la **tabla V.14** se exponen las frecuencias absolutas y relativas de los pacientes que han alcanzado distintos niveles en el cambio de la medicación a lo largo de la evolución. En cada momento temporal la mayoría de los pacientes mantuvieron la misma dosis, o bien el cambio fue menor del 10%. Hasta 4 pacientes (34%) pudieron reducir la dosis de forma importante al año del trasplante (entre el 30-43% de la dosis prequirúrgica); sin embargo solo uno de los 6 pacientes del primer sub-estudio mantuvo una reducción importante a los 2 años de seguimiento (paciente A4). Globalmente no existió correlación

estadísticamente significativa entre los cambios de medicación a los 6-12 meses y la mejoría de las principales variables clínicas de la EP.

| Cambio en la dosis equivalente de L-dopa ▼ | 6 meses | 1 año | 2 años | 3 años |
|---|----------------|--------------|---------------|---------------|
| - Incremento > 10% | 0 | 1 (8%) | 1 (17%) | 2 (40%) |
| - Sin cambio o cambio < 10% | 10 (84%) | 6 (50%) | 4 (66%) | 3 (60%) |
| - Reducción moderada (0 - 25%) | 1 (8%) | 1 (8%) | 0 | 0 |
| - Reducción importante (> 25%) | 1 (8%) | 4 (34%) | 1 (17%) | 0 |
| TOTAL: | 12 (100 %) | 12 (100 %) | 6 (100 %) | 5 (100 %) |

Tabla V.14.- Frecuencias absolutas y relativas del número de pacientes que han alcanzado distintos niveles de cambio en la dosis equivalente de levodopa a lo largo de la evolución.

Un comentario aparte merece la evolución de la **paciente B6**, que fue excluida del análisis conjunto de eficacia clínica. Sin embargo, las siguientes variables no están directamente influidas por las secuelas motoras y funcionales postquirúrgicas:

- La escala UPDRS IV mejoró un 80% a los 6 y 12 meses tras el trasplante.
- El tiempo “off” se redujo de forma importante a los 6 y 12 meses (cambio de 2 a 1 punto en el ítem 39 de la escala UPDRS).
- Las disquinesias no volvieron a aparecer durante el primer año de seguimiento (cambio de 2 a 0 puntos en la escala del protocolo CAPIT).
- La dosis equivalente de levodopa se incrementó un 17% a los 6 meses y se redujo un 8% al año respecto a la dosis prequirúrgica.

V.4.2.- Variables funcionales.-

El grupo de 12 pacientes analizado conjuntamente experimentó una mejoría estadísticamente significativa en las distintas escalas funcionales en situación “off” a los 6 meses y al año del trasplante (véanse **tablas V.11 y V.12**):

- a) La **sub-escala UPDRS II en “off”** (actividades cotidianas) mejoró una media del 16% a los 6 meses y del 20% al año respecto a su valor prequirúrgico. Esta mejoría se correlacionó de forma estadísticamente significativa con la mejoría en la sub-

escala motora tanto a los 6 meses como al año ($r = 0,78$; $p = 0,003$, prueba de correlación de Spearman).

- b) La **escala de Schwab y England en “off”** (rango de 0 a 100 puntos, de menor a mayor capacidad funcional), mejoró una media de 16 puntos a los 6 meses y de 11 puntos al año.
- c) El **índice de Barthel en “off”** solo se analizó en los 6 pacientes del segundo subestudio (rango de 0 a 100 puntos, de menor a mayor capacidad funcional). A pesar del menor tamaño muestral, también existió una mejoría significativa de 19 puntos a los 6 meses y de 16 puntos al año.

V.4.3.- Variables neuropsicológicas.-

A excepción del paciente A1, los 12 pacientes restantes fueron estudiados desde el punto de vista neuropsicológico antes de la intervención y al menos entre los 6-12 meses de seguimiento. En la **tabla V.15** se exponen los valores de las distintas pruebas administradas antes y después del trasplante, junto con la magnitud del cambio y la significación estadística.

Globalmente, no han existido cambios estadísticamente significativos en las distintas variables neuropsicológicas. La única excepción ha sido el recuerdo demorado en el test de la figura compleja de Rey, que mejoró de forma significativa en el grupo, destacando especialmente el paciente B5 que mejoró 11 puntos (un 18% de la puntuación máxima). Sin embargo, esta mejoría podría explicarse por el denominado “efecto aprendizaje”, relacionado con una mayor atención al repetir la misma prueba meses después.

Con respecto al cuestionario de ansiedad como “estado”, aunque no hay cambios estadísticamente significativos, es de destacar la existencia de valores extremos en 2 pacientes: el paciente A5 mejoró 17 puntos (un 28% de la puntuación máxima), y el paciente B1 empeoró 23 puntos (un 38% de la puntuación máxima).

Los cambios experimentados por la paciente B6 (que sufrió un infarto cerebral postquirúrgico) están en consonancia con los del grupo en su conjunto, sin desviaciones extremas en ninguna de las variables neuropsicológicas estudiadas.

| Variables neuropsicológicas ▼ n = 12 | Basal: media (DE) | Postquirúrgico: media (DE) | Cambio: (mín; máx) | Cambio: media (DE) | p |
|--|-----------------------------|--------------------------------------|------------------------------|------------------------------|--------------|
| Test de la figura compleja de Rey: | | | | | |
| - copia (0-36) | 31'77 (4'28) | 31'05 (6'19) | (-7; 3) | - 0'73 (2'96) | 0'609 |
| - recuerdo inmediato (0-60) | 14'13 (4'66) | 16'09 (7'48) | (-5; 9'5) | 1'95 (4'24) | 0'182 |
| - recuerdo demorado (0-60) | 14'35 (5'18) | 16'90 (8) | (-2; 11) | 2'55 (3'56) | 0'033 |
| - reconocimiento (0-24) | 20'54 (1'58) | 19'18 (1'72) | (-4; 5) | - 1'36 (2'42) | 0'103 |
| Memoria verbal (“Test Barcelona”): | | | | | |
| - inmediata evocada (0-23) | 11'55 (2'77) | 13 (4'42) | (-4'5; 7'5) | 1'45 (4'12) | 0'332 |
| - inmediata preguntada (0-23) | 15'05 (3'01) | 16'20 (4'06) | (-4'5; 8'5) | 1'15 (3'97) | 0'539 |
| - diferida evocada (0-23) | 13'20 (3'82) | 14'10 (4'33) | (-4'5; 7) | 0'90 (3'71) | 0'444 |
| - diferida preguntada (0-23) | 15'15 (2'92) | 15'90 (3'73) | (-5; 7'5) | 0'75 (3'72) | 0'721 |
| Test de vocabulario Boston: (0-120) | 90'90 (18'36) | 93'80 (14'92) | (-3; 19) | 2'90 (6'74) | 0'277 |
| Test STROOP: | | | | | |
| - índice de interferencia (-30 - +30) | 2'52 (5'72) | 1'40 (7'54) | (-8'5; 8'2) | - 1'12 (5'68) | 0'433 |
| - índice de colores (0-168) | 61'42 (13'50) | 62'16 (11'42) | (-18; 23) | 0'75 (10'82) | 0'799 |
| Test de fluidez verbal: | | | | | |
| - con consigna fonémica | 29'22 (14'50) | 29'56 (14'32) | (-12; 8) | 0'33 (6'42) | 0'735 |
| - con consigna semántica | 20'73 (5'78) | 20'91 (5'67) | (-9; 14) | 0'18 (6'55) | 0'858 |
| Sub-test semejanzas WAIS: (1-19) | 11'22 (3'31) | 11'56 (3'84) | (-1; 2) | 0'33 (1) | 0'317 |
| Cuestionario de ansiedad: | | | | | |
| - ansiedad como “estado” (0-60) | 14'11 (11'95) | 16'89 (8'38) | (-17; 23) | 2'77 (11'58) | 0'476 |
| - ansiedad como “rasgo” (0-60) | 24'56 (7'53) | 23'22 (9'50) | (-15; 15) | - 1'33 (9'86) | 0'722 |

Tabla V.15.- Evolución de las variables neuropsicológicas a los 6-12 meses del trasplante en los 12 pacientes estudiados (excepto el paciente A1).

- **Test de la figura compleja de Rey:** evalúa la actividad perceptiva, las habilidades visuo-motoras y distintos aspectos de la memoria visual.
- **Sub-test de memoria verbal del “Test Barcelona”:** evalúa distintos aspectos de la memoria verbal.
- **Test de vocabulario de Boston:** evalúa el lenguaje y sus distintas áreas.
- **Test de palabras y colores STROOP:** el “índice de interferencia” evalúa la atención focalizada, la inhibición a la interferencia y la flexibilidad cognitiva; el “índice de colores” refleja la velocidad de procesamiento de la información.
- **Test de fluidez verbal:** con “consigna fonémica” indica el número de palabras que el sujeto es capaz de decir en un minuto comenzando por cada una de las siguientes letras (F, A y S), computándose la suma de las tres pruebas; con “consigna semántica” indica el número de nombres de animales que el sujeto es capaz de decir en un minuto.
- **Sub-test “semejanzas” de la Escala de Inteligencia Wechsler para Adultos (WAIS):** Evalúa distintos aspectos neuropsicológicos incluidos en la función ejecutiva.
- **Cuestionario de ansiedad (auto-evaluación):** ansiedad como “estado” evalúa un estado emocional transitorio (sentimientos subjetivos e hiperactividad autonómica); ansiedad como “rasgo” evalúa la propensión ansiosa (tendencia a percibir las situaciones como amenazadoras).

Junto a cada variable se indica entre paréntesis el rango de puntuación. Se utilizan las puntuaciones directas de cada test (en el caso del “test STROOP” corregidas por la edad), excepto en el sub-test del WAIS en el que se utiliza la puntuación escalar, al haberse utilizado diferentes versiones. En todos los tests, una puntuación más elevada indica un mejor rendimiento cognitivo; en el cuestionario de ansiedad, una puntuación más elevada indica un mayor nivel de ansiedad. Para las definiciones de la variable “cambio” y del valor “p” (test de Wilcoxon), véase el pie de la **tabla V.12. Abreviaturas.**- DE: desviación estándar; mín.: mínimo; máx.: máximo; WAIS: véase más arriba.

V.4.4.- Variables relacionadas con la calidad de vida.-

- a) El **cuestionario de calidad de vida PDQ-39** solo se analizó en los 6 pacientes del segundo sub-estudio (excepto la paciente B6). A los 6 meses del trasplante, la calidad de vida había mejorado en 5 pacientes (entre el 1 y el 33% respecto a su puntuación prequirúrgica), pero había empeorado en el paciente B5. Al año, 4 pacientes mantenían la mejoría (reducción entre el 21 y 53%), encontrándose peor que antes de la cirugía los pacientes B1 y B5. Globalmente el grupo de pacientes no ha experimentado cambios estadísticamente significativos, aunque hay que tener en cuenta el pequeño tamaño muestral y la variabilidad individual. El principal factor determinante de la mejoría en la calidad de vida ha sido la mejoría en la sub-escala UPDRS II en situación “off”, existiendo correlación estadísticamente significativa tanto a los 6 meses ($r = 0'886$; $p = 0'019$) como al año del trasplante ($r = 0'778$; $p = 0'003$, prueba de correlación de Spearman).
- b) La **Impresión Clínica Global** también se analizó en estos 6 pacientes del segundo sub-estudio. A los 6 meses, la mitad de los pacientes se encontraban subjetivamente “mejor” que antes de la cirugía (coincidiendo con mejoría en la variable principal y en el cuestionario PDQ-39), y la otra mitad “igual”. Al año del trasplante, 4 pacientes se encontraban “mejor” (2 de ellos habían empeorado en la variable principal), uno “igual” (paciente B1) y otro “peor” (paciente B5).

En la **figura V.9** se puede apreciar la relación entre ambas variables: los pacientes que se sentían subjetivamente “mejor” tras la cirugía habían mejorado de forma homogénea su puntuación en el cuestionario PDQ-39; sin embargo, para los pacientes que se sentían “igual”, el cambio de puntuación fue más disperso (desde un acusado empeoramiento hasta una leve mejoría). De los 2 pacientes que sufrieron empeoramiento en su calidad de vida, solo uno reconoció estar “peor” cuando llegó el año de seguimiento.

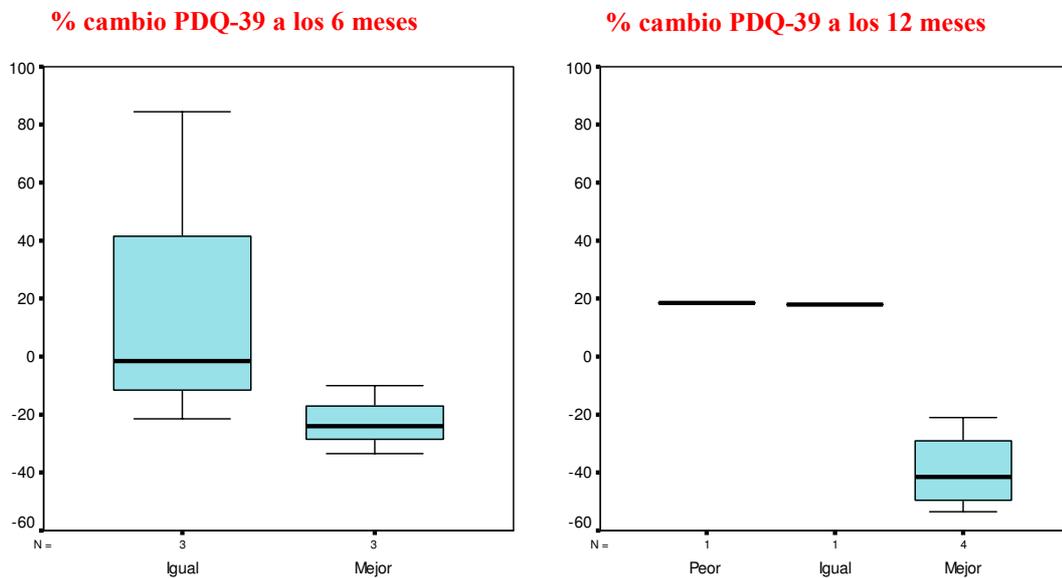


Figura V.9.- Porcentaje de cambio en el cuestionario PDQ-39 en función de la Impresión Clínica Global a los 6 meses (izquierda) y a los 12 meses del trasplante (derecha) en los 6 pacientes analizados. Véase la descripción de las variables en el apartado IV.9. Los valores negativos indican reducción de puntuación en el cuestionario PDQ-39, lo que implica mejoría de la calidad de vida. La comparación entre grupos no alcanza significación estadística probablemente debido al pequeño tamaño muestral.

V.5.- EFECTOS NEUROQUÍMICOS.-

Se han estudiado los efectos neuroquímicos del trasplante en los 7 pacientes del segundo sub-estudio (B1-B7) mediante PET cerebral con ^{18}F -dopa prequirúrgico y al año de la intervención. Adicionalmente, las pacientes B6 y B7 también se estudiaron mediante SPECT cerebral con ioflupano prequirúrgico, y a los 6 y 12 meses de seguimiento.

V.5.1.- Evolución individual.-

PET con ^{18}F -dopa.-

En la **tabla V.16** se exponen los cambios relativos del valor Ki (constante de captación de ^{18}F -dopa) obtenido mediante PET en las cuatro áreas volumétricas de interés de cada paciente: putamen y caudado de cada hemisferio. Tanto a efectos descriptivos como para el análisis estadístico, estas áreas se han agrupado en función de su localización en el hemisferio más o menos afectado por la enfermedad, en lugar de hacerlo por su posición derecha o izquierda, debido a su mayor interés biológico.

En primer lugar, es de destacar la importante variabilidad de los cambios al año entre los pacientes, así como entre hemisferios y entre áreas volumétricas:

a) Por pacientes:

- Dos pacientes experimentaron mejoría en las cuatro áreas: la paciente B3 entre el 9-49% del valor basal, y la paciente B6 entre el 1-73%.
- Dos pacientes tuvieron mejoría en dos áreas: el paciente B2 solo en ambos caudados (5% y 31%) y la paciente B7 solo en ambos putámenes (2% y 14%).
- Dos pacientes tuvieron mejoría solo en un área (un putamen): el paciente B4 (7%) y el paciente B5 (18%).
- El paciente restante (B1) no experimentó mejoría en ninguna de las cuatro áreas.
- Dos pacientes tuvieron un empeoramiento más marcado en 2 áreas: en ambos caudados el paciente B4 (17% y 22%), y en un estriado el paciente B5 (14% en el caudado y 31% en el putamen).

b) Por hemisferios y áreas volumétricas:

- Las mejorías relativas han sido más frecuentes y de mayor magnitud en los hemisferios más afectados por la enfermedad.

- Las mejorías relativas han sido más frecuentes y de mayor magnitud en el putamen, lugar donde se realizaron los implantes en estos pacientes (pero también el área estriatal más dañada por la enfermedad). No obstante, es de destacar que también han mejorado 6 de 14 caudados (entre el 1-31% del valor basal).
- Los empeoramientos por áreas volumétricas han oscilado entre el 2% y el 31% en 1 año, sin predilección clara por hemisferios o núcleos.

| PET | | Cambio porcentual del valor Ki a los 12 MESES | | | |
|------------------|----------------------------------|--|--------------------|-----------------------|--------------------|
| PACIENTES | Índice de asimetría basal | Estriado peor | | Estriado mejor | |
| | | Putamen | Caudado | Putamen | Caudado |
| B1 | 1'23 | I - 5 % | I 0 % | D - 2 % | D 0 % |
| B2 | 1'26 | I - 28 % | I + 31 % | D 0 % | D + 5 % |
| B3 | 1'08 | I + 24 % | I + 9 % | D + 49 % | D + 23 % |
| B4 | 1'04 | I - 8 % | I - 17 % | D + 7 % | D - 22 % |
| B5 | 1'46 | D + 18 % | D - 9 % | I - 31 % | I - 14 % |
| B6 | 1'49 | D + 73 % | D + 10 % | I + 2 % | I + 1 % |
| B7 | 1'23 | I + 14 % | I 0 % | D + 2 % | D - 2 % |

Tabla V.16.- Cambio porcentual del valor Ki al año (respecto al basal) de cada una de las cuatro áreas volumétricas de interés en cada paciente. Estriado peor/mejor hace referencia al estriado basalmente más/menos afectado por la enfermedad en el estudio PET prequirúrgico. Los porcentajes positivos indican incremento (mejoría) respecto al valor basal y los negativos reducción (empeoramiento). En rojo se señalan las mejorías $\geq 10\%$ y en azul los empeoramientos $\geq 10\%$. Índice de asimetría basal = Ki medio estriado mejor / estriado peor. Abreviaturas.- D: derecho; I: izquierdo; Ki: constante de captación de ^{18}F -dopa.

SPECT con ioflupano.-

En la **tabla V.17** se exponen los cambios relativos del índice de captación de ioflupano estriado/córtex occipital en las pacientes B6 y B7. En ambos casos ha existido un importante incremento a los 6 meses en ambos estriados (51-98%), pero solo se ha mantenido a los 12 meses en la paciente B7.

Aunque la muestra estudiada es escasa, al año del trasplante no parece existir buena correlación entre los cambios observados con PET y con SPECT. Si obviamos el momento evolutivo, es de destacar que la paciente B6 obtuvo la máxima mejoría tanto con PET (al año) como con SPECT (a los 6 meses), siendo más acusada en el estriado más afectado por la enfermedad (**figura V. 10**).

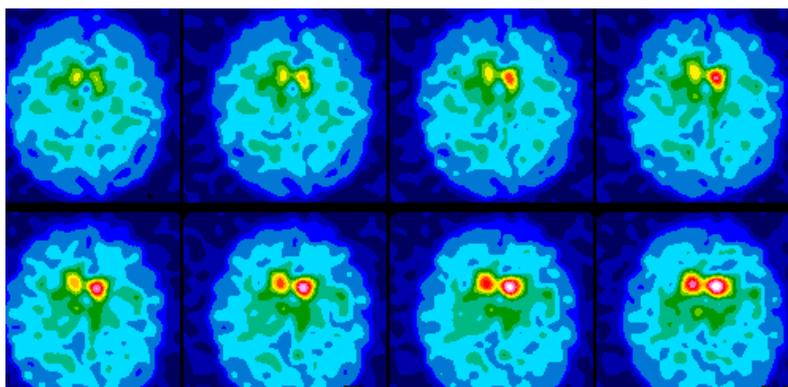
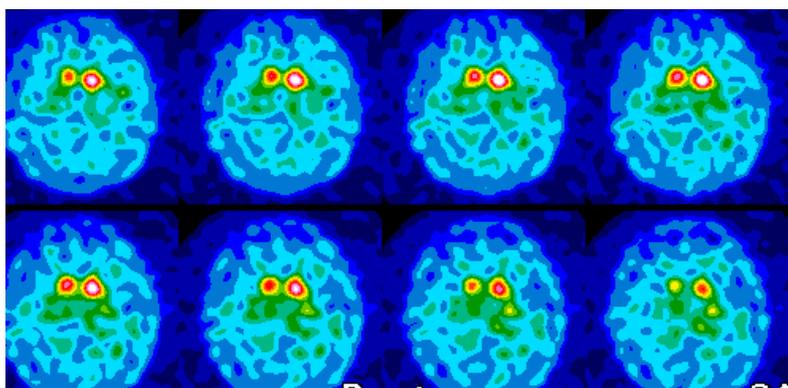
BASAL ▼**6 MESES ▼**

Figura V.10.- SPECT cerebral con ioflupano basal y a los 6 meses del trasplante en la paciente B6. Las imágenes se corresponden con cortes tomográficos axiales en una secuencia craneo-caudal similar para ambos estudios. La región cerebral posterior se representa abajo y el hemisferio derecho (más afectado por la enfermedad) a la izquierda de cada imagen. Obsérvese la mayor captación (áreas blancas y rojas) en un mayor número de cortes del estudio postquirúrgico.

| SPECT | | Cambio porcentual del índice de captación regional de ioflupano | | | |
|------------------|--|--|-----------------------|----------------------|-----------------------|
| PACIENTES | Índice de asimetría basal | 6 MESES | | 12 MESES | |
| | | Estriado peor | Estriado mejor | Estriado peor | Estriado mejor |
| | | D | D | I | I |
| B6 | 1,22 | + 98% | + 80% | 0% | 0% |
| | | I | I | D | D |
| B7 | 1,21 | + 74% | + 51% | + 74% | + 51% |

Tabla V.17.- Cambio porcentual del índice de captación de ioflupano estriado/córtex occipital a los 6 y 12 meses (respecto al valor basal) en las 2 pacientes estudiadas. La interpretación es similar a la de la **tabla V.16**, pero haciendo referencia a los datos de SPECT.

V.5.2.- Análisis conjunto.-

En la **tabla V.18** se resume la evolución conjunta de las variables neuroquímicas obtenidas mediante PET, indicando la magnitud de los cambios al año y la significación estadística. Considerando como unidad de análisis los 7 pacientes estudiados, no se han encontrado cambios globales estadísticamente significativos. De hecho, existe una gran variabilidad en el rango de cambios de cada variable (véase tabla), hecho que ya se observó en el análisis individual.

Teniendo en cuenta la naturaleza progresiva de la enfermedad de Parkinson, es de destacar la ausencia de decrementos estadísticamente significativos en la captación de ^{18}F -dopa a lo largo de un año de evolución. Al contrario, se aprecia una tendencia no significativa hacia un incremento relativo en distintas áreas, máxima en el putamen más afectado por la enfermedad (media del 12%). En general, esta tendencia hacia la mejoría es más acusada en los estriados basalmente más afectados y, dentro de cada estriado, mayor en el putamen que en el caudado (véanse los porcentajes medios en la **tabla V.18**). Sin duda, este patrón está en parte potenciado por la comparación de los porcentajes de cambio en lugar de los cambios absolutos (a igualdad de cambio absoluto, el porcentaje siempre es mayor a menor puntuación basal). Sin embargo, la misma tendencia se observa cuando se estudian los cambios absolutos en la captación de ^{18}F -dopa, como se puede apreciar en la **figura V.11**.

| Variables neuroquímicas ▼ PET | Basal media | 1 año media | Cambio: (mín; máx) | Cambio: media (DE) | P[†] |
|--|------------------------|------------------------|-------------------------------|-------------------------------|----------------------|
| PACIENTES/HEMISFERIOS (n = 7) | | | | | |
| - Ki putamen peor: | 0'00427 | 0'00469 | (- 28%; 73%) | 12% (32'1) | 0'397 |
| - Ki putamen mejor: | 0'00557 | 0'00560 | (- 31%; 49%) | 4% (23'5) | 0'596 |
| - Ki medio putamen bilat.: | 0'00492 | 0'00514 | (- 15%; 37%) | 5% (19'7) | 0'735 |
| - Ki caudado peor: | 0'00854 | 0'00869 | (- 17%; 31%) | 3% (15'6) | 0'586 |
| - Ki caudado mejor: | 0'01036 | 0'01020 | (- 22%; 23%) | - 1% (14'4) | 0'917 |
| - Ki medio caudado bilat.: | 0'00945 | 0'00944 | (- 20%; 16%) | 1% (13'3) | 0'917 |
| - Ki medio estriado peor: | 0'00641 | 0'00669 | (- 14%; 28%) | 5% (13'1) | 0'397 |
| - Ki medio estriado mejor: | 0'00796 | 0'00790 | (- 21%; 31%) | 0% (16) | 1 |
| - Índice de asimetría: | 1'26 | 1'18 | (- 0'3; 0'2) | - 0'07 (0'17) | 0'310 |
| HEMISFERIOS (n = 14) | | | | | |
| - Ki putamen: | 0'00492 | 0'00514 | (- 31%; 73%) | 8% (27'4) | 0'441 |
| - Ki caudado: | 0'00945 | 0'00944 | (- 22%; 31%) | 1% (14'6) | 0'894 |
| - Ki medio estriado: | 0'00719 | 0'00729 | (- 21%; 31%) | 3% (14'3) | 0'615 |

Tabla V. 18.- Evolución al año de las variables neuroquímicas obtenidas mediante PET, considerando como unidad de análisis los 7 pacientes estudiados y sus hemisferios (arriba) y los 14 hemisferios conjuntamente (abajo). Peor/mejor hace referencia al estriado de cada paciente basalmente más/menos afectado por la enfermedad (es decir, con menor/mayor Ki medio). Índice de asimetría = Ki medio estriado mejor / estriado peor. El cambio respecto al valor basal se recoge en dos columnas: en la primera se han incluido los valores mínimo y máximo, y en la segunda la media y desviación estándar (entre paréntesis), considerando los valores negativos como reducción (empeoramiento) y los positivos como incremento (mejoría). [†]Valor p obtenido al comparar los valores pre- y postquirúrgicos mediante el test no paramétrico de Wilcoxon para muestras relacionadas: ningún valor alcanza significación estadística. Abreviaturas.- DE: desviación estándar; Ki: constante de captación de ¹⁸F-dopa; mín.: mínimo; máx.: máximo.

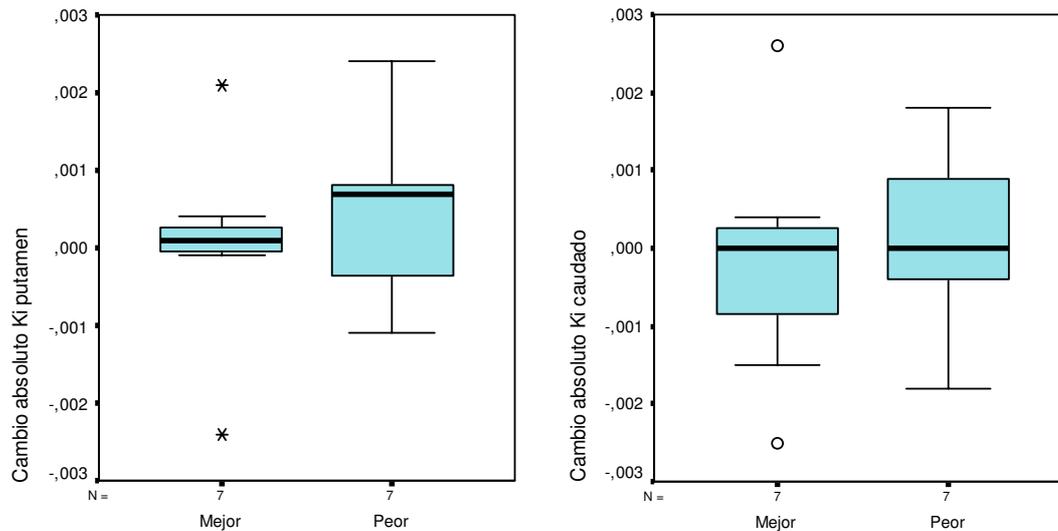
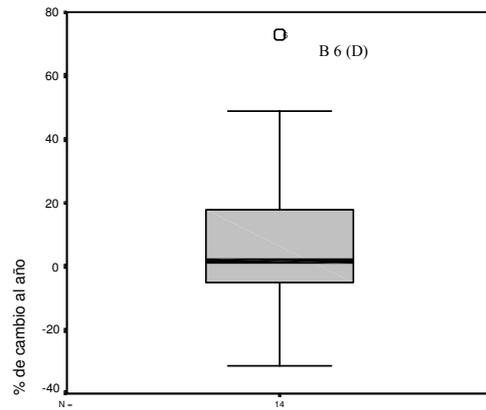
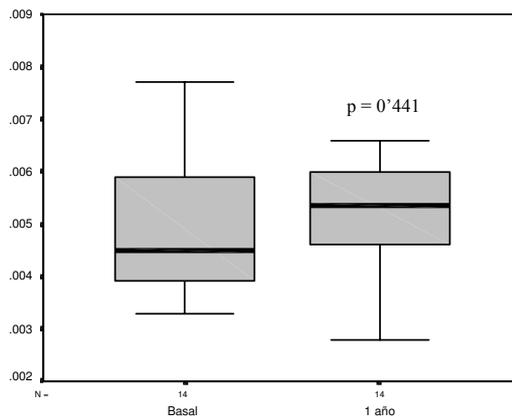


Figura V.11.- Distribución de los cambios absolutos en el valor Ki de putamen (izquierda) y caudado (derecha), comparando en cada caso los hemisferios menos afectados (“mejor”) con los más afectados (“peor”) de cada paciente. Los valores positivos indican incremento (mejoría) y los negativos reducción (empeoramiento). Valor $p = 0,710$ para ambas comparaciones mejor/peor y $p = 0,662$ para la comparación caudado/putamen (test U de Mann-Whitney).

Considerando como unidad de análisis los 14 hemisferios de los pacientes, tampoco se detectan cambios globales estadísticamente significativos (**tabla V. 18** y **figura V.12**). Igualmente se aprecia una amplia variabilidad en los cambios, con una tendencia hacia la mejoría más evidente en el putamen (media del 8%). Se ha estudiado la correlación existente entre el cambio absoluto en la captación de ^{18}F -dopa y su valor prequirúrgico, considerando conjuntamente los 14 hemisferios de los pacientes (**figura V.13**). Se puede apreciar una clara tendencia hacia un cambio más favorable cuanto mayor sea la afectación basal, especialmente en el putamen, si bien no alcanza significación estadística al nivel α prefijado.

Valor Ki putamen: (n = 14 hemisferios)



Valor Ki caudado: (n = 14 hemisferios)

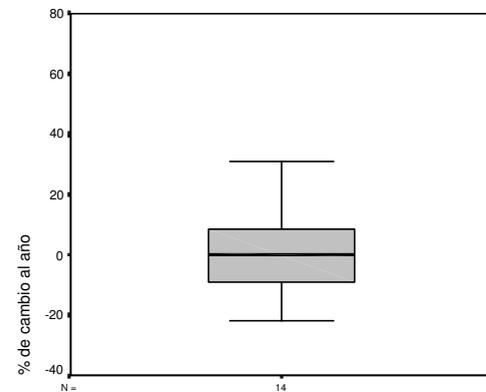
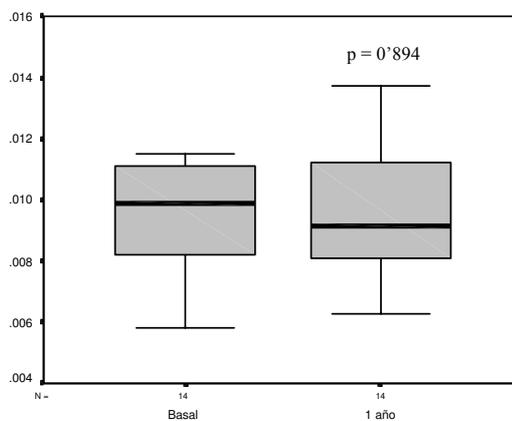


Figura V.12.- Distribución pre- y postquirúrgica (1 año) de los valores Ki de putamen y caudado, así como del porcentaje de cambio, considerando conjuntamente los 14 hemisferios de los pacientes. Los valores positivos en el porcentaje de cambio indican incremento (mejoría). Abreviaturas.- B6 (D): valor atípico correspondiente al putamen derecho de la paciente B6 (73%).

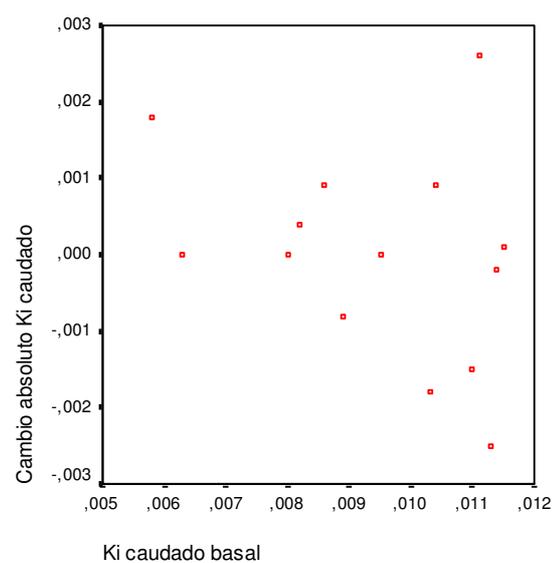
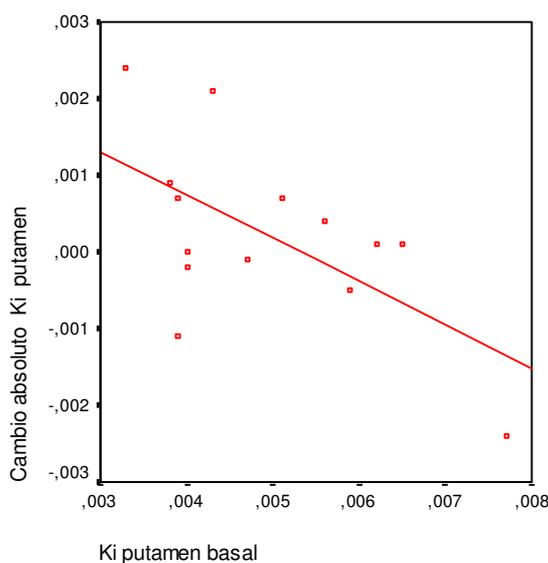


Figura V.13.- Correlación del cambio absoluto en el valor Ki de putamen (izquierda) y caudado (derecha) respecto a su valor prequirúrgico, considerando conjuntamente los 14 hemisferios de los pacientes. Se ha incluido la correspondiente recta de regresión. Putamen: $r = -0.456$; $p = 0.101$. Caudado: $r = -0.276$; $p = 0.339$ (prueba de correlación de Spearman).

V.5.3.- Correlación entre los efectos neuroquímicos y clínicos.-

Se ha estudiado la correlación entre los cambios neuroquímicos en el PET y la variable principal de eficacia clínica: el cambio en la escala UPDRS III en situación “off”. Hay que tener en cuenta que los valores de ambas variables han sido obtenidos de forma “cegada” por investigadores independientes, aportando una medida objetiva de los cambios tras el trasplante. La paciente B6 no ha podido ser incluida en este análisis al no disponer de evaluaciones clínicas “cegadas”, por lo que la muestra la constituyen 6 pacientes y sus correspondientes 12 hemisferios.

Considerando los pacientes como unidad de análisis (n = 6), en la **tabla V. 19** y **figura V.14** se muestran las correlaciones entre los cambios relativos de los valores Ki al año y los cambios clínicos en distintos momentos evolutivos, Se observa una clara tendencia hacia la asociación entre un cambio neuroquímico más favorable en el putamen (Ki medio bilateral) y una mayor mejoría motora (UPDRS III en “off”), más evidente cuando se considera la evolución a los 6 meses del trasplante. La correlación entre las variables alcanza significación estadística cuando se contempla la mejoría clínica máxima alcanzada por cada paciente (p = 0’042). Se han estudiado las mismas correlaciones considerando los cambios en valor absoluto, obteniéndose resultados similares (datos no mostrados).

| Correlación cambios clínicos y PET por pacientes (n = 6) | % cambio Ki medio putamen (1 año) | % cambio Ki medio caudado (1 año) |
|---|---|--|
| % cambio UPDRS III 6 meses | r = - 0’771 p = 0’072 | r = - 0’371 p = 0’468 |
| % cambio UPDRS III 1 año | r = - 0’657 p = 0’156 r = - 1* p < 0’0001* | r = 0’257 p = 0’623 |
| % mejoría máxima UPDRS III | r = - 0’829 p = 0’042 | r = - 0’143 p = 0’787 |

Tabla V.19.- Correlaciones entre el cambio porcentual del valor Ki medio de putamen y caudado al año y el cambio porcentual en la escala UPDRS III en “off” (cegada) en distintos momentos evolutivos. El porcentaje de mejoría máxima se corresponde con el obtenido a los 6 meses en los pacientes B1-B5 y con el obtenido al año en la paciente B7. Se indica el coeficiente de correlación rho (r) de Spearman y la significación estadística (en rojo: p ≤ 0’05). * Excepto el paciente B3, que obtuvo el máximo cambio del valor Ki medio de putamen (37%).

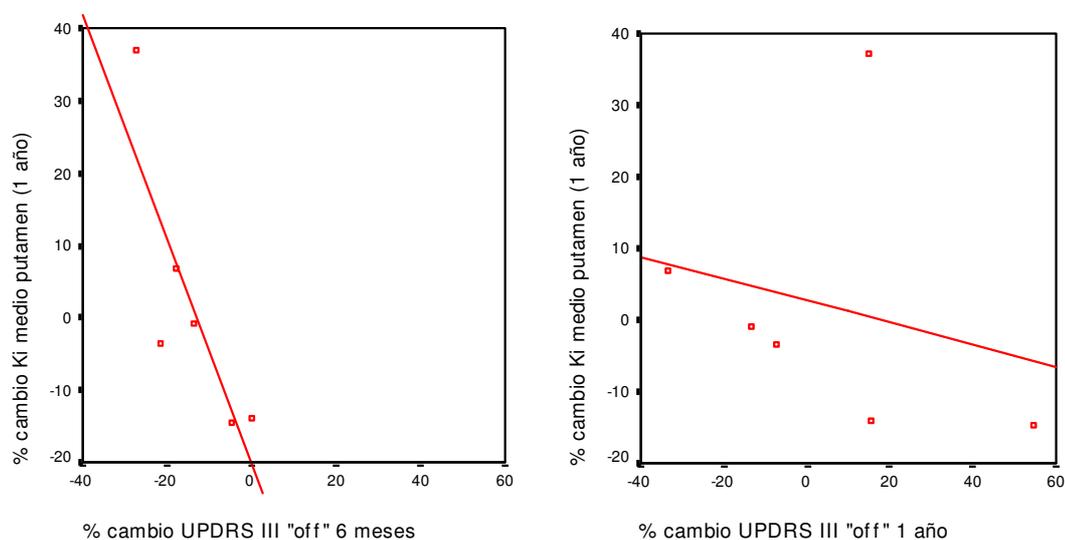


Figura V.14.- Correlación entre el cambio porcentual del valor Ki medio del putamen al año y el cambio porcentual en la escala UPDRS III en “off” (cegada) a los 6 meses (izquierda) y al año (derecha) ($n = 6$). Los valores positivos (incremento) indican mejoría en el valor Ki y empeoramiento en la escala UPDRS III. Véanse coeficientes y significación estadística en la **tabla V.19**.

Considerando como unidad de análisis los 12 hemisferios de los pacientes (**tabla V.20**), no existen correlaciones estadísticamente significativas entre los cambios en el PET y en la clínica motora del hemisferio contralateral. Sin embargo, al analizar por separado los hemisferios basalmente más o menos afectados por la enfermedad ($n = 6$), se encuentra una correlación estadísticamente significativa entre el cambio relativo en la captación de ^{18}F -dopa del putamen menos afecto y los cambios clínicos relativos en el hemisferio contralateral a los 6 meses ($p = 0'042$) (**tabla V.20 y figura V.15**). Si se consideran los cambios absolutos en las mismas variables, es significativa la asociación entre el cambio en el putamen menos afecto y la mejoría motora máxima alcanzada en el hemisferio contralateral ($p = 0'039$).

| Correlación cambios clínicos y PET por hemisferios | % cambio Ki putamen (1 año) | % cambio Ki caudado (1 año) |
|---|--|--|
| Todos los hemisferios: (n = 12) | | |
| % cambio UPDRS III hemicuerpo 6 meses | r = - 0'501 p = 0'097 | r = - 0'254 p = 0'426 |
| % cambio UPDRS III hemicuerpo 1 año | r = 0'144 p = 0'656 | r = 0'131 p = 0'686 |
| % mejoría máxima UPDRS III hemi. | r = - 0'462 p = 0'131 | r = - 0'106 p = 0'744 |
| Hemisferios “peores”: (n = 6) | | |
| % cambio UPDRS III hemicuerpo 6 meses | r = - 0'174 p = 0'742 | r = - 0'441 p = 0'381 |
| % cambio UPDRS III hemicuerpo 1 año | r = 0'371 p = 0'468 | r = 0'058 p = 0'913 |
| % mejoría máxima UPDRS III hemi. | r = - 0'086 p = 0'872 | r = - 0'406 p = 0'425 |
| Hemisferios “mejores” (n = 6) | | |
| % cambio UPDRS III hemicuerpo 6 meses | r = - 0'829 p = 0'042 | r = - 0'257 p = 0'623 |
| % cambio UPDRS III hemicuerpo 1 año | r = - 0'371 p = 0'468 | r = 0'257 p = 0'623 |
| % mejoría máxima UPDRS III hemi. | r = - 0'771 p = 0'072 | r = - 0'143 p = 0'787 |

Tabla V.20.- Correlaciones entre el cambio porcentual del valor Ki medio de putamen y caudado al año y el cambio porcentual en la sub-escala UPDRS III del hemicuerpo contralateral en “off” (cegada) en distintos momentos evolutivos. Peor/mejor hace referencia al hemisferio basalmente más/menos afectado por la enfermedad en cada paciente. El porcentaje de mejoría máxima en la sub-escala UPDRS III del hemicuerpo contralateral se corresponde con el obtenido a los 6 meses en todos los hemicuerpos, excepto los obtenidos al año en el hemicuerpo derecho del paciente B4 y en el izquierdo de la paciente B7. Se indica el coeficiente de correlación rho (r) de Spearman y la significación estadística (en rojo: $p \leq 0'05$). Abreviaturas.- hemi.: hemicuerpo contralateral.

Se ha estudiado asimismo la correlación entre los cambios neuroquímicos en el PET y los cambios en la escala de disquinesias CAPIT. En los 6 pacientes analizados, únicamente se encuentra asociación estadísticamente significativa entre la reducción relativa de las disquinesias al año y el incremento en la captación en el putamen basalmente más afectado por la enfermedad (**figura V.16**).

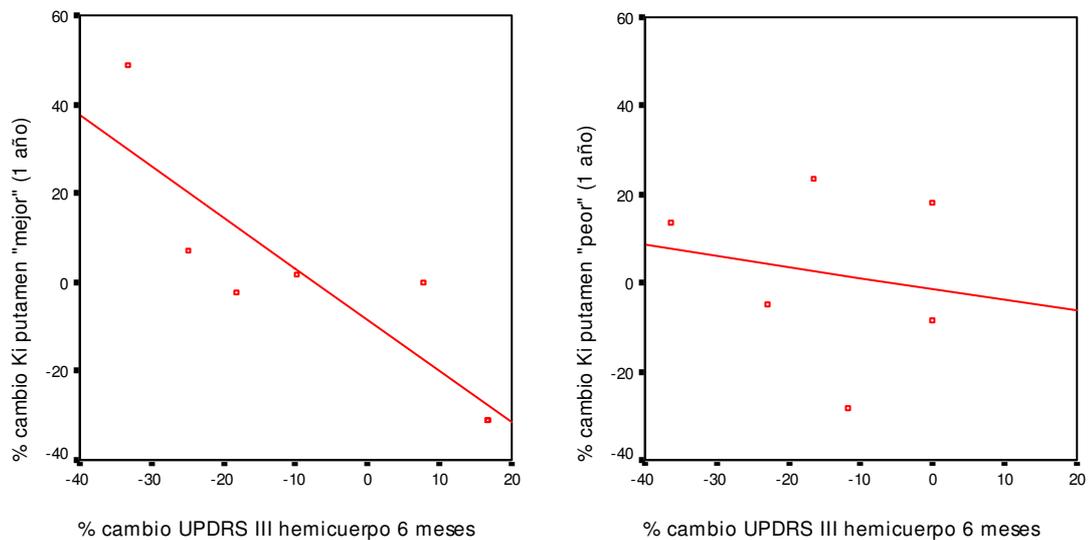


Figura V.15.- Correlación entre el cambio porcentual del valor Ki del putamen “mejor” (izquierda) o “peor” (derecha) de cada paciente y el cambio porcentual en la sub-escala UPDRS del hemicuerpo contralateral en “off”(cegada) (n = 6). Peor/mejor hace referencia al hemisferio basalmente más/menos afectado por la enfermedad. Los valores positivos (incremento) indican mejoría en el valor Ki y empeoramiento en la UPDRS III. Véanse coeficientes y significación estadística en la **tabla V.20**.

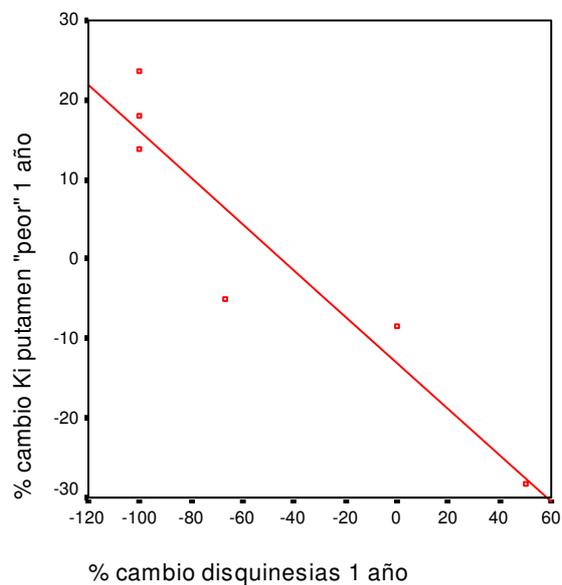


Figura V.16.- Correlación entre el cambio porcentual del valor Ki del putamen “peor” y el cambio porcentual en la escala de disquinesias CAPIT al año del trasplante (n = 6). Coeficiente de correlación de Spearman: $r = -0,941$; $p = 0,005$. “Peor” hace referencia al hemisferio basalmente más afectado por la enfermedad. Los valores positivos (incremento) indican mejoría en el valor Ki y empeoramiento en la escala de disquinesias.

V.6.- FACTORES PRONÓSTICOS PREQUIRÚRGICOS.-

V.6.1.- Variable principal de eficacia clínica.-***Análisis bivalente***

En la **tabla V.21** se exponen las correlaciones entre el porcentaje de cambio en la escala UPDRS III en “off” (cegada) a los 6 meses y un año del trasplante, y las características prequirúrgicas de los pacientes. Es de destacar que en ningún momento existió correlación significativa entre el porcentaje de cambio y la puntuación basal de esta escala, por lo que esta variable dependiente refleja adecuadamente los cambios postquirúrgicos, sin favorecer artificialmente a los pacientes menos afectados (a igualdad de cambio en valor absoluto, el porcentaje de cambio sería mayor en aquellos pacientes con menor puntuación basal).

Como se comentó en el apartado V.3.3, existe una clara diferencia entre los resultados del primer y segundo sub-estudios: sólo los pacientes del primer sub-estudio experimentaron una mejoría estadísticamente significativa a lo largo de todo el primer año de evolución (**figura V.8**). Asimismo, al considerar los porcentajes de mejoría alcanzados, la tendencia también es favorable para el primer sub-estudio, si bien las comparaciones no alcanzan significación estadística ($p = 0'078$ a los 6 y 12 meses).

Las variables prequirúrgicas que se correlacionan de forma estadísticamente significativa con la magnitud relativa del cambio motor en situación “off” son las siguientes (**tabla V.21**):

- a) **Integridad histológica del CC.-** Los pacientes con mayor integridad histológica del CC han mejorado más a los 6 meses del trasplante, siendo esta asociación estadísticamente significativa para los pacientes del primer sub-estudio ($p = 0'015$) (**figura V. 17**).
- b) **Edad.-** Su influencia ha sido opuesta en ambos sub-estudios a lo largo de la evolución. Mientras que en el primer sub-estudio los pacientes más jóvenes mejoraron más (la asociación alcanza significación estadística al año; $p = 0'042$), en el segundo sub-estudio ocurrió a la inversa (**figura V. 18**).

| VARIABLES DEPENDIENTES ► VARIABLES INDEPENDIENTES ▼ | % cambio UPDRS III “off” 6 meses (n = 12) | | % cambio UPDRS III “off” 1 año (n = 12) | |
|--|---|--------------------------------|---|--------------------------------|
| | r | p | r | p |
| Sub-estudio (A/B): | --- | 0'078 | --- | 0,078 |
| Integridad histológica del CC: | - 0'530 A: - 0'899 B: - 0'441 | 0'077 0'015 0'381 | - 0'175 | 0'586 |
| Variables demográficas y clínicas: | | | | |
| - Sexo | --- | 0'073 | --- | 0'123 |
| - Edad | 0'130 | 0'688 | 0'035 A: 0'829 B: - 0'551 | 0'914 0'042 0'257 |
| - Tiempo de evolución | 0'229 | 0'473 | - 0'011 A: 0'522 B: - 0'841 | 0'974 0'288 0'036 |
| - Respuesta a levodopa | 0'067 A: - 0'600 B: 0'714 | 0'837 0'208† 0'111 | 0'112 | 0'729 |
| - UPDRS II en “off” | 0'098 | 0'761 | 0'102 | 0'753 |
| - UPDRS III en “off”(cegada) | 0'077 | 0'812 | 0'000 | 1'000 |
| - UPDRS III en “on” | - 0'060 | 0'854 | - 0'189 | 0'555 |
| - Estadio de Hoehn y Yahr en “off” | 0'641 | 0'025 | 0'530 | 0'077 |
| - Tiempo en “off” | 0'300 | 0'344 | - 0'082 | 0'801 |
| - Escala de disquinesias CAPIT | - 0'236 | 0'461 | - 0'111 | 0'732 |
| - Escala Schwab y England en “off” | - 0'185 | 0'565 | - 0'235 | 0'462 |
| - Dosis equivalente levodopa | 0'294 | 0'354 | 0'531 | 0'075 |
| - Escala PDQ-39 (n = 6) | B: - 0'543 | 0'266 | B: - 0'943 | 0'005 |
| Variables neuroquímicas: (n = 6) | | | | |
| - Valor Ki medio putamen | B: 0'029 | 0'957 | B: - 0'290 | 0'577‡ |
| - Valor Ki medio caudado | B: - 0'429 | 0'397 | B: - 0'486 | 0'329 |
| - Índice de asimetría | B: 0'543 | 0'266 | B: 0'714 | 0'111 |

Tabla V.21.- Correlaciones bivariantes no paramétricas entre el porcentaje de cambio en la variable principal de eficacia clínica a los 6 y 12 meses tras el trasplante y las características prequirúrgicas de los pacientes.

- N = 12 (n = 6 para la escala de calidad de vida PDQ-39 y las variables neuroquímicas).

- A o B hacen referencia al primer y segundo sub-estudio respectivamente (cada uno n= 6). Se señalan las correlaciones estratificadas solo para las variables con diferencias reseñables.

- Para las variables “sub-estudio” y “sexo” (cualitativas dicotómicas) se indica el valor p según el test U de Mann-Whitney; el resto de variables han sido tratadas como cuantitativas, indicando el coeficiente de correlación rho (r) de Spearman y su significación estadística (valor p). En rojo: correlaciones estadísticamente significativas al nivel $\alpha \leq 0'05$.

- Un menor valor del porcentaje de cambio (valor más negativo) indica una mayor reducción de la escala UPDRS III, es decir, una mayor mejoría clínica.

- † Cuando se excluye al paciente A3, que no obtuvo mejoría clínica, la correlación es estadísticamente significativa en este sub-estudio: $r = - 0'9$; $p = 0'037$.

- ‡ Cuando se excluye al paciente B5, que experimentó el máximo empeoramiento al año, la correlación es estadísticamente significativa: $r = 1$; $p < 0'0001$.

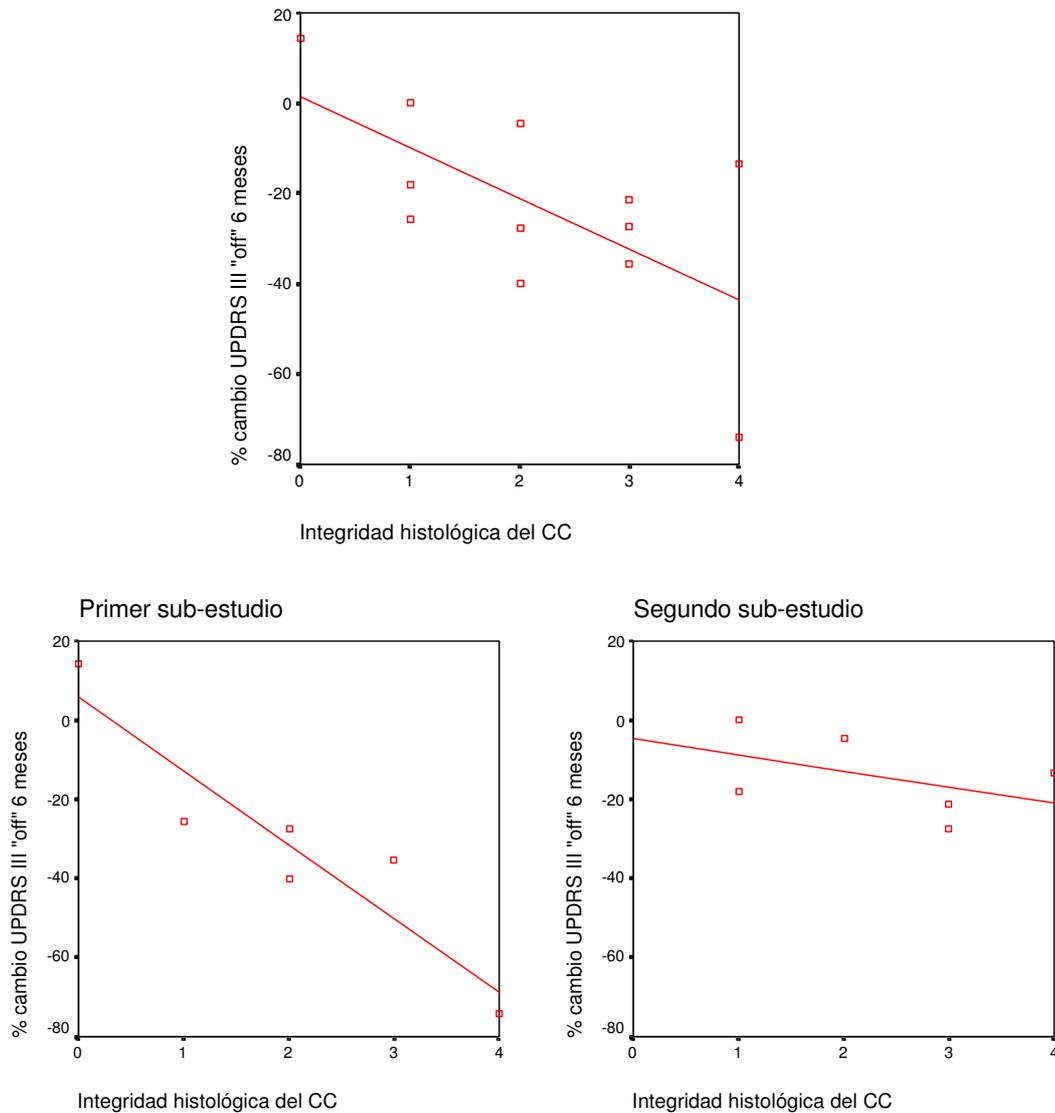
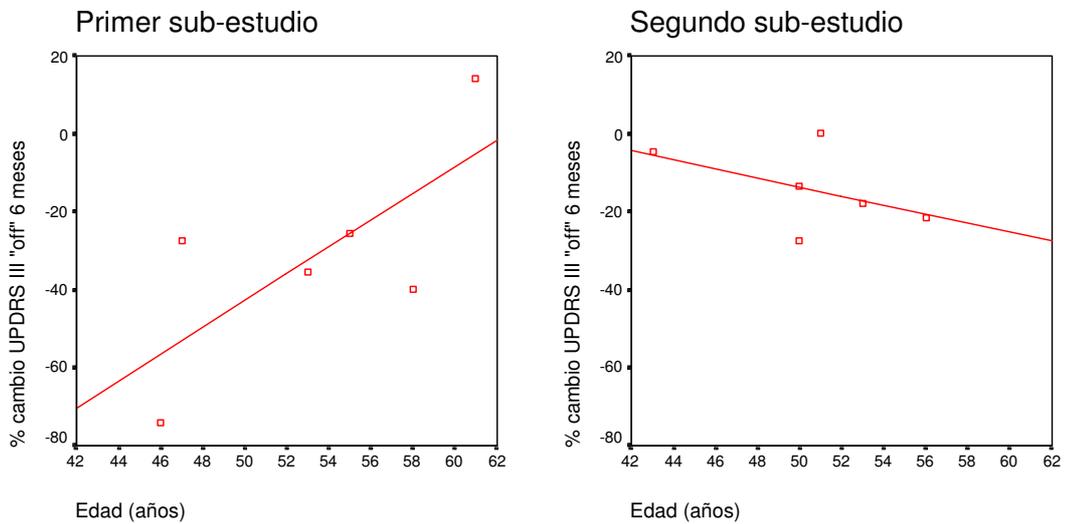


Figura V.17.- Correlación lineal entre el porcentaje de cambio en la escala UPDRS III en “off” (cegada) a los 6 meses del trasplante y la integridad histológica del CC. En el primer sub-estudio alcanza significación estadística ($r = -0.899$; $p = 0.015$). En esta y en sucesivas figuras nótese que los porcentajes negativos indican reducción en la escala UPDRS y, por tanto, mejoría clínica.

6 meses:



1 año:

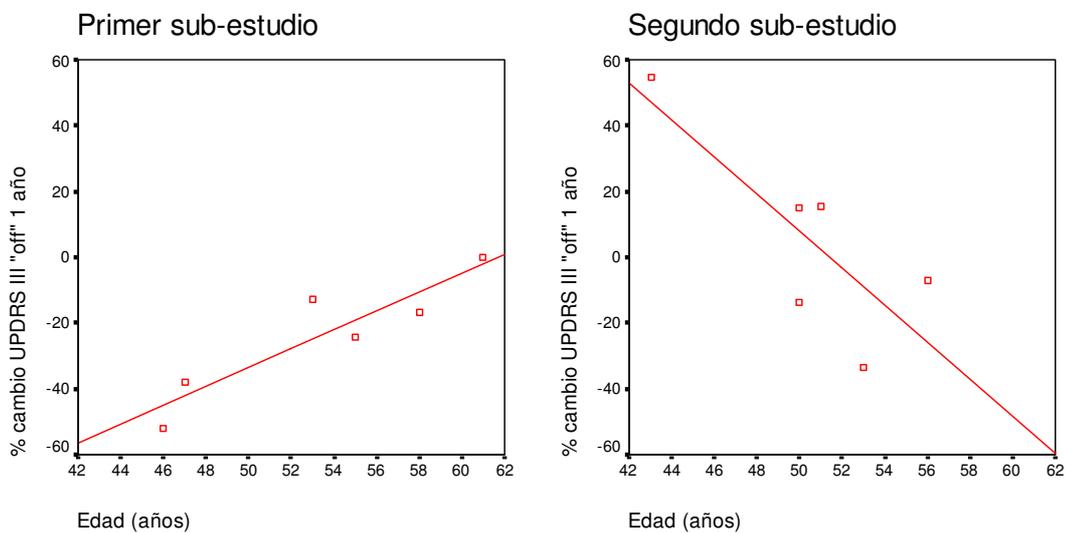


Figura V.18.- Correlación lineal entre el porcentaje de cambio en la escala UPDRS III en “off” (cegada) a los 6 meses (arriba) y 1 año del trasplante (abajo) y la edad de los pacientes. En el primer sub-estudio la asociación alcanza significación estadística al año de evolución ($r = 0,829$; $p = 0,042$).

- c) **Tiempo de evolución de la EP.**- Únicamente en los pacientes del segundo sub-estudio existió correlación significativa al año del trasplante ($p = 0'036$): el porcentaje de cambio fue más favorable a mayor tiempo de evolución.
- d) **Respuesta a la levodopa.**- Aunque globalmente no ha existido asociación significativa, cuando se excluye al paciente A3 (cuyo CC no tenía células y no obtuvo mejoría clínica), se observa una relación lineal estadísticamente significativa en los pacientes del primer sub-estudio ($p = 0'037$), siendo la eficacia mayor en aquellos pacientes con mejor respuesta prequirúrgica a la levodopa. La relación observada es inversa en los pacientes del segundo sub-estudio (**figura V. 19**).
- e) **Estadio de Hoehn y Yahr en “off”.**- Los pacientes con menor estadio prequirúrgico han obtenido un mayor porcentaje de mejoría, siendo esta asociación estadísticamente significativa a los 6 meses (**figura V.20**).
- f) **Escala de calidad de vida PDQ-39.**- Solo se estudió en los 6 pacientes analizados del segundo sub-estudio. Al año del trasplante existía una correlación estadísticamente significativa ($p = 0'005$), obteniendo una evolución motora más favorable aquellos pacientes con peor calidad de vida prequirúrgica.
- g) **Captación de ^{18}F -dopa (PET).**- Solo se estudió en los 6 pacientes analizados del segundo sub-estudio. Globalmente no ha existido asociación significativa entre el porcentaje de mejoría clínica y los valores K_i medios de putamen y caudado prequirúrgicos. Sin embargo, si se excluye al paciente B5 (que experimentó el máximo empeoramiento al año), existe una estrecha asociación entre un mayor valor K_i medio del putamen antes de la cirugía y una evolución clínica más favorable al año ($p < 0'0001$) (**figura V.21**). Esta tendencia se mantiene considerando los hemisferios como unidad de análisis ($p = 0'065$). De esta forma, en este sub-grupo de pacientes se precisa una captación putaminal de ^{18}F -dopa mayor de 0'005 para obtener algún grado de mejoría clínica al año del trasplante.

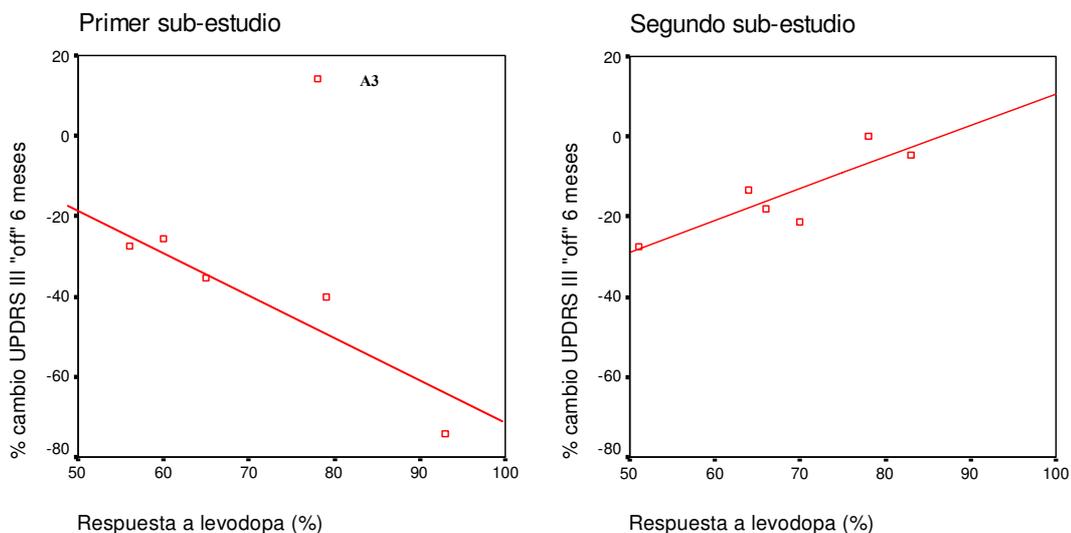


Figura V.19.- Correlación lineal entre el porcentaje de cambio en la escala UPDRS III en “off” (cegada) a los 6 meses y la respuesta prequirúrgica a la levodopa. En el primer sub-estudio la asociación alcanza significación estadística si se excluye al paciente A3 (CC sin células y ausencia de mejoría clínica) ($r = - 0'9$; $p = 0'037$).

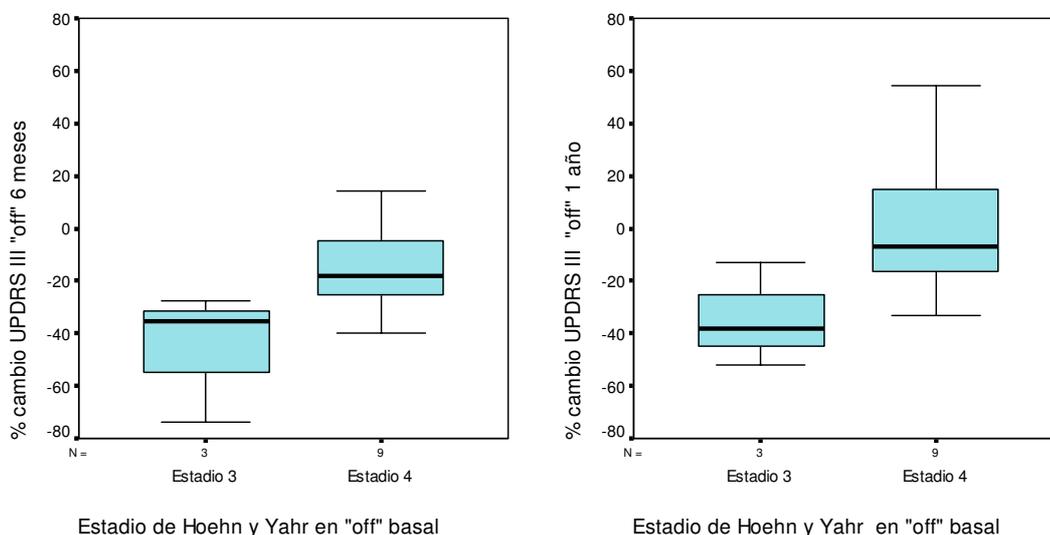


Figura V.20.- Comparación de los porcentajes de cambio en la escala UPDRS en “off” (cegada) a los 6 meses (izquierda) y al año (derecha) en función del estadio de Hoehn y Yahr en “off” prequirúrgico. Valor $p = 0'033$ a los 6 meses y $p = 0'079$ al año (test no paramétrico U de Mann-Whitney).

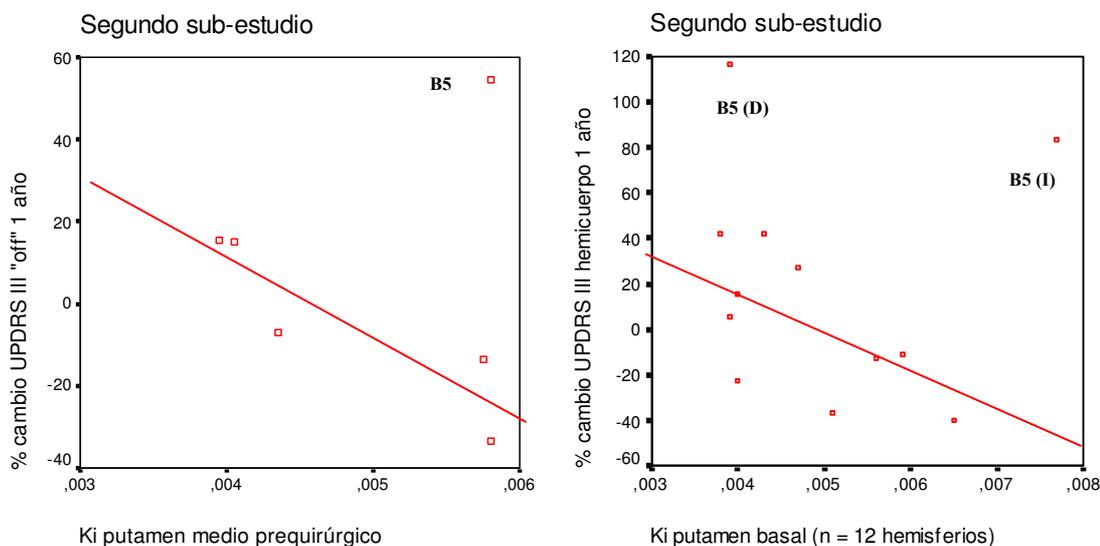


Figura V.21.- Correlaciones lineales entre el porcentaje de cambio en la escala UPDRS III en “off” (cegada) al año y el valor Ki prequirúrgico del putamen, considerando los 6 pacientes analizados (izquierda) y sus correspondientes 12 hemisferios (derecha). Excluyendo al paciente B5, que experimentó el máximo empeoramiento, la correlación es estadísticamente significativa en los 5 pacientes restantes ($r = -1$; $p < 0'0001$), y próxima a la significación en sus 10 hemisferios ($r = -0'604$; $p = 0'065$). Abreviaturas.- D: derecho; I: izquierdo.

Análisis multivariante

Para determinar los principales factores predictores de la eficacia clínica eliminando los factores de confusión, se ha realizado un análisis de regresión lineal multivariante en cada momento evolutivo (6 meses y 1 año), teniendo en cuenta las interacciones entre los principales factores predictores y el correspondiente sub-estudio.

Se han obtenido sendos modelos multivariantes que predicen más del 80% de la variabilidad en la eficacia clínica a los 6 meses y al año del trasplante (**tablas V.22 y V.23**). A igualdad del resto de variables, el principal factor predictor de la eficacia clínica a los 6 meses ha sido la **integridad histológica del CC**, actuando con distinta magnitud en el primer y segundo sub-estudios (la interacción entre ambas variables es significativa y se ha incluido en el modelo). Al año del trasplante, el principal predictor prequirúrgico ha sido la **edad de los pacientes**, actuando de forma opuesta en los pacientes del primer y segundo sub-estudio, como ya vimos en el análisis bivalente.

| EFICACIA MOTORA 6 MESES | R² | coeficiente β | valor p |
|------------------------------------|----------------------|---------------------------------------|----------------|
| MODELO MULTIVARIANTE: | 0'820 | | 0'002 |
| VARIABLES DEL MODELO: | | | |
| ▪ Constante | | 16'52 | 0'428 |
| ▪ Integridad del CC | | - 33'27 | 0'003 |
| ▪ Estudio (A/B) | | - 10'62 | 0'453 |
| ▪ Interacción CC x estudio | | 14'62 | 0'027 |

Tabla V.22.- Modelo de regresión lineal multivariante que predice el porcentaje de cambio en la escala **UPDRS III en “off” cegada** a los 6 meses del trasplante (n = 12). Se indica el coeficiente de determinación (R²), que indica la parte de variabilidad explicada por el modelo (82%) y la significación estadística (ANOVA). Para cada variable de la ecuación se indica el coeficiente β no estandarizado y su significación estadística. En rojo: $p \leq 0'05$.

| EFICACIA MOTORA 1 AÑO | R² | coeficiente β | valor p |
|----------------------------------|----------------------|---------------------------------------|----------------|
| MODELO MULTIVARIANTE: | 0'883 | | 0'005 |
| VARIABLES DEL MODELO: | | | |
| ▪ Constante | | - 641'10 | 0'003 |
| ▪ Edad | | 11'32 | 0'004 |
| ▪ Estudio (A/B) | | 464'84 | 0'002 |
| ▪ Interacción edad x estudio | | - 8'47 | 0'003 |

Tabla V.23.- Modelo de regresión lineal multivariante que predice el porcentaje de cambio en la escala **UPDRS III en “off” cegada** al año del trasplante (n = 12). Véase la leyenda de la **tabla V.22.**

V.6.2.- VARIABLES CLÍNICAS SECUNDARIAS.-

Mediante análisis de regresión lineal multivariante se han estudiado los factores predictores relacionados con el cambio en las principales variables clínicas secundarias, obteniéndose los siguientes resultados estadísticamente significativos:

Sub-escala UPDRS II en “off” (actividades cotidianas).-

El porcentaje de mejoría a los 6 meses en esta escala funcional viene determinado principalmente por un menor estadio de Hoehn y Yahr prequirúrgico ($R^2 = 0,44$; $p = 0,019$, ANOVA). Otros factores independientes han sido: un mayor tiempo de evolución de la EP a igualdad de estadio (evolución más lenta), especialmente en los pacientes del segundo sub-estudio; y una mayor integridad histológica del CC, que por sí sola explica hasta el 93% de la variabilidad en los pacientes del primer sub-estudio. En toda la muestra de pacientes, las tres variables mencionadas explican de forma significativa el 87% de la variabilidad a los 6 meses ($R^2 = 0,867$; $p = 0,001$) (**tabla V.24**).

| EFICACIA FUNCIONAL 6 MESES | R² | coeficiente β | valor p |
|---------------------------------------|----------------------|---------------------------------------|--------------------|
| MODELO MULTIVARIANTE: | 0,867 | | 0,001 |
| VARIABLES DEL MODELO: | | | |
| ▪ Constante | | - 100,54 | 0,001 |
| ▪ Estadio Hoehn y Yahr | | 35,16 | < 0,0001 |
| ▪ Tiempo de evolución | | - 3,16 | 0,001 |
| ▪ Integridad del CC | | - 5,11 | 0,024 |

Tabla V.24.- Modelo de regresión lineal multivariante que predice el porcentaje de cambio en la escala **UPDRS II en “off”** a los 6 meses del trasplante ($n = 12$). Véase la leyenda de la **tabla V.22**. Las interacciones entre el estudio (A/B) y las variables incluidas en el modelo no han sido estadísticamente significativas.

Al año del trasplante, el modelo multivariante solo incluye al estadio de Hoehn y Yahr en “off” y al tiempo de evolución de la enfermedad ($R^2 = 0,68$; $p = 0,016$). Aunque la integridad histológica del CC ha perdido influencia en la muestra global al año de seguimiento, sin embargo sigue siendo el principal factor predictor de la mejoría funcional en los pacientes del primer sub-estudio ($R^2 = 0,85$; $p = 0,034$).

Sub-escala UPDRS IV (complicaciones de la EP y su tratamiento).-

El porcentaje de mejoría en esta sub-escala a los 6 meses está determinado principalmente por la integridad histológica del CC ($R^2 = 0'37$; $p = 0'037$), especialmente en los pacientes del primer sub-estudio ($R^2 = 0'67$; $p = 0'047$). Otros factores independientes han sido: una menor dosis equivalente de levodopa prequirúrgica (principal predictor en el segundo sub-estudio); una menor edad y, a igualdad de edad, un mayor tiempo de evolución de la EP. El conjunto de las variables mencionadas explican de forma significativa el 95% de la variabilidad a los 6 meses ($R^2 = 0'95$; $p = 0'001$).

Escala de disquinesias.-

La mejoría absoluta en esta escala a los 6 meses viene determinada por el sexo (mayor en las mujeres) y por la mayor severidad prequirúrgica de las disquinesias en relación a la dosis de medicación (menor umbral) ($R^2 = 0'78$; $p = 0'001$).

Dosis equivalente de levodopa.-

En el análisis multivariante, el principal factor que predice la reducción de medicación a los 6 meses es el menor estadio de Hoehn y Yahr en “off” prequirúrgico ($R^2 = 0'49$; $p = 0'012$) (**figura V.22**).

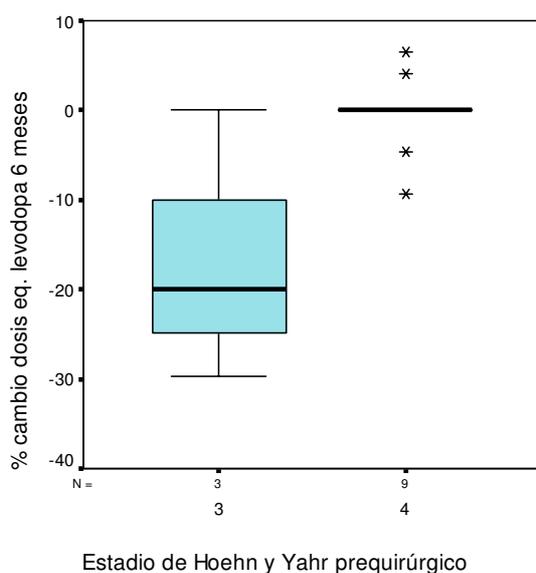


Figura V.22.- Porcentaje de cambio en la dosis equivalente de levodopa a los 6 meses del trasplante en función del estadio de Hoehn y Yahr en “off” prequirúrgico ($p = 0'076$, test no paramétrico U de Mann-Whitney).

Cuestionario de calidad de vida PDQ-39.-

Solo se recogió en los 6 pacientes analizados del segundo sub-estudio (en estadio 4 de Hoehn y Yahr en “off”). A igualdad del resto de variables prequirúrgicas, el principal factor predictor de mejoría (absoluta y relativa) a los 6 meses fue una peor puntuación basal en el cuestionario PDQ-39 ($R^2 = 0'842$; $p = 0'010$) (**figura V.23**). Sin duda, este resultado está influido por la evolución del paciente B5, con valores atípicos para ambas variables.

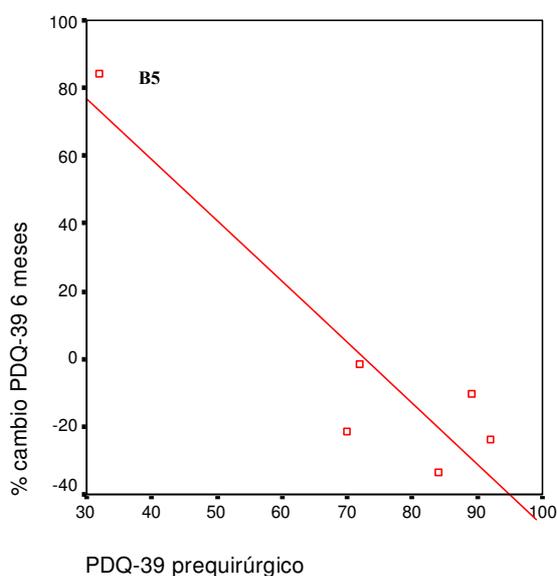


Figura V.23.- Porcentaje de cambio a los 6 meses en el cuestionario de calidad de vida PDQ-39 en función de la puntuación basal ($r = -0'60$, $p = 0'208$; prueba de correlación de Spearman).

V.6.3.- Variables neuroquímicas.-

Mediante análisis bi- y multivariante se han estudiado las asociaciones entre los cambios en las variables neuroquímicas al año del trasplante y las distintas variables prequirúrgicas, incluyendo las principales variables clínicas, la histología del CC y los valores neuroquímicos basales. Se han analizado los cambios porcentuales y absolutos en los valores Ki de putamen y caudado, en primer lugar considerando como unidad de análisis los 7 pacientes estudiados mediante PET (valor medio de ambos hemisferios) y, en segundo lugar, agrupando sus correspondientes 14 hemisferios. En cada análisis multivariante se han obtenido las mismas conclusiones cuando se ha considerado la variable dependiente como porcentaje o como cambio absoluto.

Cambio porcentual del valor Ki de putamen.-

Considerando los pacientes como unidad de análisis ($n = 7$), el principal predictor en el análisis multivariante del incremento en el valor Ki medio de ambos putámenes ha

sido la mayor puntuación basal en la sub-escala “axial” de la UPDRS III en “off” ($R^2 = 0'895$; $p = 0'001$) (**figura V.24a**). Puesto que estos pacientes estaban en el mismo estadio de Hoehn y Yahr en “off” (estadio 4), una mayor puntuación en la sub-escala “axial” implica una mayor severidad de la EP. A igualdad de esta última variable, no ha existido asociación significativa con otras variables clínicas o neuroquímicas. Se apreció una tendencia hacia un cambio más favorable en el valor Ki a mayor integridad histológica del CC, aunque no alcanzó significación estadística ($p = 0'434$, prueba de correlación de Spearman) (**figura V.25**).

Si se consideran los hemisferios como unidad de análisis ($n = 14$), además de la sub-escala “axial” de la UPDRS III en “off” (**figura V.24b**), el modelo multivariante incluye también de forma independiente al valor Ki basal del putamen, siendo el cambio neuroquímico más favorable a menor valor basal (véase la **figura V.13** respecto a los cambios absolutos). Ambas variables explican un 72% de la variabilidad del valor Ki del putamen al año del trasplante ($R^2 = 0'716$, $p = 0'001$). A igualdad de estas variables, no son significativas las asociaciones con otras variables independientes, ni tampoco las interacciones al considerar los hemisferios basalmente más o menos afectados por la enfermedad.

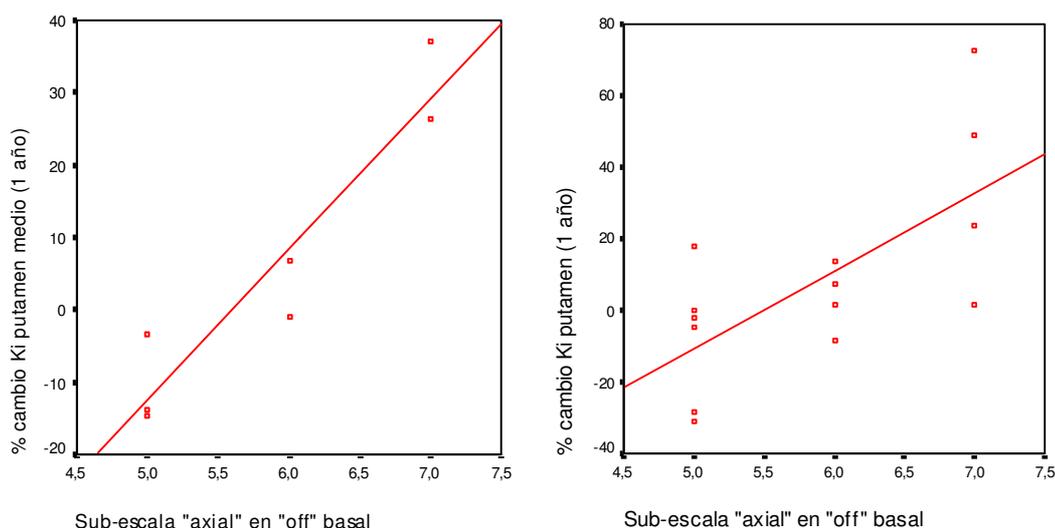


Figura V.24.- Correlación entre la puntuación en la sub-escala “axial” en “off” prequirúrgica (cegada) y el cambio porcentual en el valor Ki de putamen: **a)** (izquierda) considerando los pacientes como unidad de análisis ($n = 7$) y **b)** (derecha) considerando los hemisferios como unidad de análisis ($n = 14$). Los porcentajes positivos indican incremento (mejoría) en la captación de ^{18}F -dopa. En el análisis bivariante (prueba de correlación de Spearman): **a)** $r = 0'945$, $p = 0'001$; **b)** $r = 0'694$, $p = 0'006$.

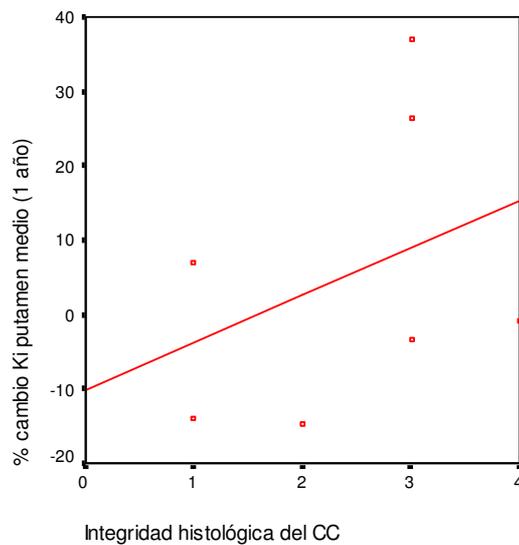


Figura V.25.- Correlación entre la integridad histológica del CC y el cambio porcentual en el valor Ki medio del putamen al año del trasplante (n = 7). ($r = 0,356$, $p = 0,434$; prueba de correlación de Spearman).

Cambio porcentual del valor Ki de caudado.-

Considerando los pacientes como unidad de análisis (n = 7), el principal predictor del incremento en el valor Ki medio de ambos caudados ha sido el menor valor Ki medio de ambos putámenes (enfermedad más severa) ($R^2 = 0,732$; $p = 0,014$) (**figura V.26a**). Igualmente, al analizar conjuntamente los hemisferios (n = 14), el principal factor fue el menor valor Ki basal del putamen ipsilateral ($R^2 = 0,330$, $p = 0,032$) (**figura V.26b**). En el análisis multivariante no han existido otras asociaciones ni interacciones significativas.

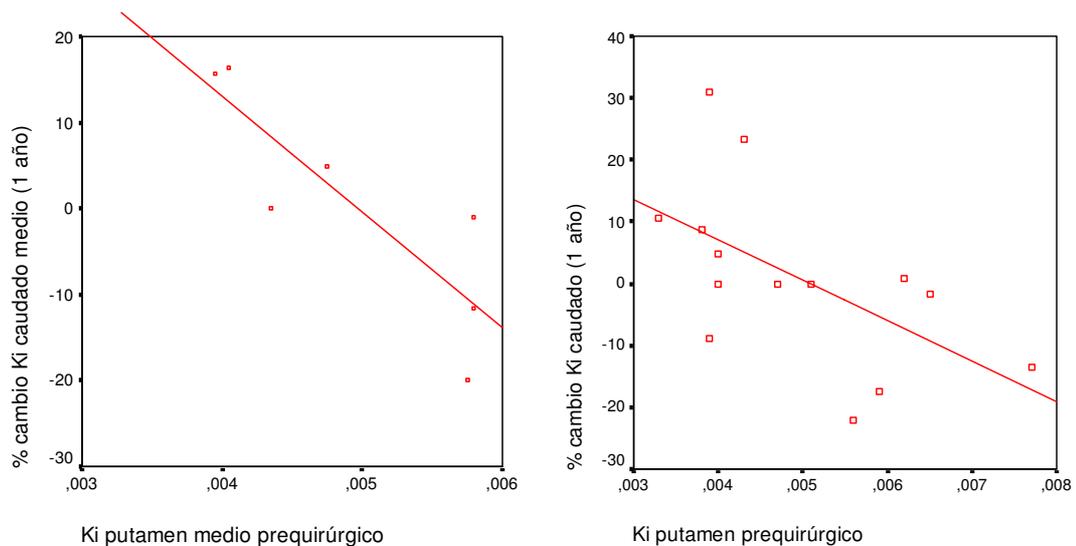
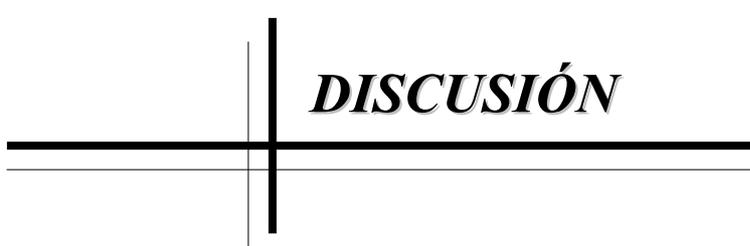


Figura V.26.- Correlación entre el valor Ki de putamen prequirúrgico y el cambio porcentual en el valor Ki de caudado: **a)** (izquierda) considerando los pacientes como unidad de análisis (n = 7) y **b)** (derecha) considerando los hemisferios como unidad de análisis (n = 14). Los porcentajes positivos indican incremento (mejoría) en la captación de ^{18}F -dopa. En el análisis bivariante (prueba de correlación de Spearman): **a)** $r = -0,811$, $p = 0,027$; **b)** $r = -0,619$, $p = 0,018$.



DISCUSIÓN

Nuestro estudio aborda, por primera vez en pacientes con EP, la viabilidad del autotrasplante de agregados celulares del CC, tras haber demostrado en modelos animales capacidad para inducir una restauración neurotrófica del sistema nigro-estriatal. Por tanto, la información científica obtenida sobre los resultados clínicos, y sobre la histología del CC en esta enfermedad, constituye una primicia en el campo de las Neurociencias.

El objetivo principal del estudio ha sido evaluar la seguridad, la eficacia clínica y los efectos neuroquímicos del trasplante. Al tratarse de aspectos básicos de un procedimiento experimental en desarrollo, el diseño se corresponde con el de un ensayo en fase II: análisis detallado pre y postquirúrgico en una muestra reducida de sujetos, sin grupo control. A pesar de las limitaciones inherentes a este diseño (que se discutirán más adelante), los resultados han demostrado que el autotrasplante de agregados celulares del CC es un procedimiento viable y capaz de inducir cambios clínicos favorables en los pacientes con EP avanzada, aunque de magnitud y duración variables. Como se demostrará, estos cambios pueden atribuirse en gran medida a los efectos biológicos de las células implantadas. Además, se han obtenido datos indirectos que sugieren la existencia de un efecto neuroprotector sobre el sistema nigro-estriatal del huésped.

VI.1.- PACIENTES DEL ESTUDIO.-

VI.1.1.- Tamaño muestral.-

Teniendo en cuenta los objetivos y diseño de nuestro estudio, el tamaño muestral ha sido necesariamente limitado. En total se han incluido 14 pacientes, aunque el procedimiento quirúrgico solo se completó en 13 (6 en el primer sub-estudio y 7 en el segundo). Los efectos neuroquímicos mediante PET fueron evaluados en los 7 pacientes del segundo sub-estudio. Hay que tener en cuenta que este tamaño muestral condiciona una baja potencia para detectar cambios o asociaciones estadísticamente significativas cuando se aplican pruebas de hipótesis. Por tanto, debido al error aleatorio β o de tipo II, la ausencia de significación estadística no puede interpretarse como prueba de que realmente no exista cambio o asociación. En este contexto, es importante tener en consideración aquellos cambios individuales más relevantes, especialmente si se correlacionan con otras variables de interés.

VI.1.2.- Diagnóstico de EP idiopática.-

Uno de los problemas comunes a todos los estudios de investigación sobre la EP es la existencia de un posible sesgo de selección relacionado con la inclusión de pacientes con síndromes parkinsonianos distintos de la EP idiopática. En este sentido hay que tener en cuenta que, en estudios *post mortem*, el diagnóstico de EP realizado en vida puede ser incorrecto hasta en el 24 % de los casos (Rajput *et al.*, 1991; Hughes *et al.*, 1993). En el caso de los trasplantes, este sesgo podría infraestimar los resultados obtenidos. A pesar de utilizar unos criterios de inclusión definidos, en algunos estudios se han trasplantado pacientes diagnosticados posteriormente de otra enfermedad, como fue un caso de degeneración estriónigra comunicada por el grupo de la Universidad de Yale (Spencer *et al.*, 1992).

En nuestro estudio, este riesgo se ha tratado de minimizar al máximo empleando unos criterios diagnósticos de alta especificidad, como son los del Banco de cerebros de Londres (Gibb y Lees, 1988). Adicionalmente se exigió un mínimo de 5 años de duración de la enfermedad, de tal forma que se pudiera confirmar el mantenimiento de la respuesta a la levodopa y la ausencia de otros datos clínicos atípicos. En los pacientes

estudiados mediante PET, también se valoró específicamente la existencia de un patrón de captación característico. Aunque, a pesar de todo ello, no puede excluirse la posibilidad de este sesgo, hay que tener en cuenta que es poco probable que haya afectado a varios de los pacientes y, en cualquier caso, podría ser sospechado o confirmado en el seguimiento abierto a largo plazo.

VI.1.3.- Severidad de la EP.-

Nuestro estudio, al igual que los principales estudios sobre trasplantes y otras terapias neuroregenerativas, se ha centrado en pacientes con EP relativamente “avanzada”. Bajo este término impreciso, ampliamente utilizado en la literatura, se incluyen generalmente pacientes que presentan complicaciones motoras (fluctuaciones y/o disquinesias) de difícil manejo farmacológico, con discapacidad funcional asociada. Hay que tener en cuenta que esta exigencia responde fundamentalmente a criterios éticos, al tratarse de procedimientos experimentales no exentos de riesgos.

En nuestro centro, los pacientes fueron reclutados entre aquellos que consultaban por la posibilidad de tratamiento quirúrgico de la EP. Por tanto, se trataba de pacientes con un control insatisfactorio de sus síntomas y que asumían los riesgos de la cirugía estereotáctica. Aunque eran potenciales candidatos para ECP, consideraron que todavía contaban con margen para decidir esta terapia y que, por tanto, podrían reintervenirse posteriormente en caso de no obtener beneficio tras el trasplante. Sin el efecto de la medicación (situación “off”), 10 de los 13 pacientes incluidos se encontraban en estadio 4 de Hoehn y Yahr, y únicamente 3 presentaban una menor afectación basal (estadio 3). Bajo el efecto de la levodopa, la mejoría motora era importante en todos ellos (media del 70%). Si tenemos en cuenta que, al inicio de los síntomas, ya se ha perdido el 60-70% de las neuronas nigricas (Fearnley y Lees, 1991), es previsible que estos pacientes tuvieran un importante grado de degeneración nigro-estriatal, además de la afectación de otras estructuras extra-nigricas (véase el estadiaje de Braak en la tabla II.2). En los 7 pacientes estudiados mediante PET (en estadio 4 de Hoehn y Yahr) el valor Ki medio del putamen fue aproximadamente la mitad del valor promedio normal, teniendo en cuenta además que el PET tiende a sobrestimar la densidad de las terminales presinápticas (véase el apartado II.1.9).

Sin embargo, aunque la inclusión de estos pacientes con “EP avanzada” resulte éticamente aceptable para investigar un nuevo procedimiento experimental, hay que tener en cuenta que el mejor momento para aplicar una terapia potencialmente neuroprotectora o neuroregenerativa probablemente sea una etapa inicial de la enfermedad. En ese caso, la mayoría de los estudios que se han realizado sobre terapia celular o administración de factores neurotróficos podrían haber infraestimado su eventual utilidad clínica. Como ejemplo, en uno de los estudios controlados sobre el trasplante de mesencéfalo fetal, únicamente aquellos pacientes con menor afectación basal (UPDRS III en “off” ≤ 49) que recibieron más tejido, mantenían cierta mejoría respecto al grupo placebo a los 2 años de seguimiento (Olanow *et al.*, 2003). Si bien nuestro estudio piloto ha permitido conocer aspectos básicos relacionados con los efectos del trasplante del CC, la magnitud y duración de estos efectos deben ser interpretadas en este contexto clínico.

De igual forma, al extrapolar los resultados obtenidos en modelos animales de EP, es necesario tener en cuenta la naturaleza progresiva y extensa del proceso neurodegenerativo en la EP humana (Braak y Braak, 2000). Es previsible que los efectos de cualquier terapia potencialmente neuroregenerativa sean más acusados y duraderos cuanto más selectivo y estable sea el daño neuronal, como ocurre en los modelos animales de la enfermedad. En este sentido es interesante destacar que dos pacientes con parkinsonismo tóxico por MPTP obtuvieron una importante mejoría progresiva tras ser sometidos a un trasplante de mesencéfalo fetal (Widner *et al.*, 1992). En los pacientes con EP, la variabilidad en la tasa de progresión de la enfermedad condiciona la diferente duración del beneficio obtenido con los actuales tratamientos farmacológicos y quirúrgicos (Miyawaki *et al.*, 1997; Krack *et al.*, 2003). Igualmente, parece razonable que también determine la repercusión clínica de los trasplantes u otros tratamientos neurorestauradores.

VI.1.4.- Edad.

Distintos datos sugieren que la edad del huésped puede condicionar los efectos biológicos de los trasplantes. Por una parte, existe una estrecha asociación entre la edad y la severidad de la EP. Además, el primero de los estudios controlados sobre trasplantes de mesencéfalo fetal demostró que los pacientes más jóvenes (≤ 60 años)

podían tener una mayor repercusión clínica durante el primer año tras el trasplante (Freed *et al.*, 2001). Los pacientes más jóvenes son también, por lo general, mejores candidatos quirúrgicos debido a su menor co-morbilidad y menor riesgo de complicaciones. Con respecto al CC, es conocido que esta estructura se reduce y fibrosa progresivamente con la edad (Testut y Latarjet, 1978). Por todo ello, parece razonable que se haya fijado un límite de edad alrededor de los 60 para estudiar el autotrasplante del CC: la edad media de los 13 pacientes intervenidos fue de 52 años, con un rango entre 43 y 61 años.

El requisito del límite de edad, junto con el de haber alcanzado un determinado grado de severidad, ha condicionado que la mayoría de los pacientes intervenidos (11 de 13) tuvieran una “EP de comienzo precoz” (inicio antes de los 45 años). Hay que tener en cuenta que la EP es una entidad heterogénea y que, precisamente en estos pacientes de comienzo precoz son más frecuentes las formas genéticas de la enfermedad (Golbe, 1991). Aunque ninguno de nuestros pacientes tenía historia familiar de EP, no puede excluirse la posibilidad de un sesgo de selección en este sentido. En cualquier caso, esta circunstancia no compromete la validez interna del estudio, aunque podría afectar a la validez externa: los resultados solo serían extrapolables a pacientes de características similares.

VI.2.- TEJIDO DONANTE.-

El tejido donante de nuestro estudio ha sido el propio CC derecho de cada paciente (autotrasplante), a excepción de una pequeña porción periférica que se reservó para el estudio histológico.

VI.2.1.- Extirpación e integridad estructural del CC.-

La extirpación y aislamiento del CC completo fue posible en los 14 pacientes incluidos. En el primer sub-estudio, el paciente trasplantado de mayor edad (61 años) tenía un CC fibroso, con ausencia de elementos TH positivos en el estudio histológico, y no obtuvo beneficio clínico tras la cirugía. Teniendo en cuenta estos datos, no se llevó a cabo el trasplante en uno de los pacientes del segundo sub-estudio (54 años), debido al hallazgo de un CC macroscópicamente fibroso. Como se ha dicho en el apartado anterior, es conocido que el CC se fibrosa progresivamente con la edad; sin embargo, desconocemos la prevalencia de este hallazgo en pacientes con EP menores de 60 años. Al tratarse de un factor limitante del trasplante, sería necesario desarrollar métodos incruentos para evaluar la integridad del CC como paso previo a la cirugía.

VI.2.2.- Cantidad de tejido.-

Aún en ausencia de fibrosis significativa, debemos tener en cuenta que la cantidad de tejido disponible para el autotrasplante del CC es limitada. La extirpación bilateral se considera inaceptable por la alteración secundaria de la respuesta a la hipoxia (Honda, 1992), así como por la posibilidad de inducir indirectamente un fallo barorreflejo (se discutirá en el apartado VI.4.3).

En nuestro estudio se estima que el número de células glómicas obtenidas de cada CC y trasplantadas a cada paciente ha sido del orden de decenas de miles, lo que contrasta con los millones de neuronas fetales que se han trasplantado en distintos estudios (Lindvall *et al.*, 1989; Freeman *et al.*, 1995; Freed *et al.*, 2001; Olanow *et al.*, 2003), incluso teniendo en cuenta que la supervivencia a largo plazo de las células fetales humanas podría ser del 5%.

Mientras que en los modelos animales de EP, en los que el proceso degenerativo es limitado y no progresivo, la cantidad de células glómicas trasplantadas ha sido suficiente para inducir la recuperación histológica y funcional; en los pacientes con EP éste número podría ser insuficiente, especialmente en aquellos con una progresión más rápida de la enfermedad.

VI.2.3.- Integridad histológica del CC.-

La integridad histológica del CC fue estudiada *a posteriori* por investigadores no implicados en la selección ni en el seguimiento clínico de los pacientes (véase el apartado IV.8). Con el fin de trasplantar la mayor cantidad posible de tejido, este estudio histológico se realizó sobre una pequeña porción periférica del CC, por lo no puede descartarse que se haya infraestimado la integridad histológica real. Se estableció una clasificación cualitativa en 5 categorías (de 0 a 4 +) en función de la abundancia de células TH positivas y su distribución en glomérulos, teniendo en cuenta que estas células tipo I son los elementos funcionalmente activos del CC: además de sintetizar y liberar dopamina, hoy en día conocemos que también son las células que producen altos niveles de GDNF en los roedores adultos (López-Barneo y Toledo-Aral, comunicación personal).

Entre los 13 pacientes finalmente trasplantados, solo uno tenía ausencia de elementos TH positivos en el fragmento estudiado, mientras que más de la mitad se clasificaron en las categorías 2 + y 3 +. Se observó una tendencia hacia una peor histología a mayor edad, sin existir asociación destacable con otras variables clínicas de los pacientes.

VI.2.4.- Estructura y función del CC en pacientes con EP.-

En la actualidad se desconoce si el CC se afecta estructural o funcionalmente en el proceso patológico de la EP, lo que supondría una importante limitación para el autotrasplante. Hay que tener en cuenta que la EP es una enfermedad multisistémica, en la que se van dañando progresivamente distintas poblaciones del sistema nervioso central y del sistema autónomo periférico. Las células glómicas poseen características comunes con las neuronas dopaminérgicas, y además estarían expuestas a los mismos factores genéticos y ambientales que desencadenan la enfermedad. Un estudio basado

en 25 pacientes con EP (estadio 2 y 3 de Hoehn y Yahr) ha encontrado que la respuesta a la hipoxia y la percepción de disnea están alteradas con respecto a 11 controles sanos, lo que podría deberse a la hipofunción del CC asociada a la EP (Onodera *et al.*, 2000). Sin embargo, estos hallazgos también podrían estar relacionados con la medicación dopaminérgica que tomaban los pacientes; de hecho, es conocido que los agentes dopaminérgicos son capaces de inhibir la función del CC (Zapata y Zuazo, 1980; Röggl *et al.*, 2000).

Por otro lado, distintos estudios experimentales sugieren una destacada resistencia del CC ante determinados mecanismos patogénicos de la EP. Las células glómicas carecen de sistema de recaptación de dopamina (DAT), por lo que están protegidas del estrés oxidativo relacionado con el metabolismo dopaminérgico, así como de la acción tóxica del MPP⁺ (metabolito activo del MPTP) (Toledo-Aral *et al.*, 2003). De hecho, la administración de MPTP no destruye estas células en modelos animales, manteniendo una adecuada producción de GDNF a largo plazo. Se ha planteado que la expresión de altos niveles de GDNF por estas células puede ser de hecho un mecanismo protector, al estar expuestas en condiciones fisiológicas a un intenso estrés oxidativo (López-Barneo y Toledo-Aral, comunicación personal).

En nuestro estudio no se han encontrado cuerpos de Lewy ni depósitos de α -sinucleína en ninguno de los 8 fragmentos analizados específicamente, a pesar de pertenecer a pacientes en un estadio avanzado de la enfermedad (estadio 4 de Hoehn y Yahr en “off”). No obstante, no puede excluirse que estos marcadores histológicos de la EP estuvieran presentes si se hubiera estudiado el CC completo, en lugar de la pequeña porción periférica disponible. En cualquier caso, no hemos encontrado asociación significativa entre la integridad histológica del CC y variables clínicas relacionadas con la severidad de la EP, lo que también sugiere la ausencia de afectación relevante debida a la enfermedad.

VI.3.- PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS.-

Después de la optimización de los procedimientos en modelos animales de EP, nuestro estudio confirma la viabilidad técnica del autotrasplante de agregados celulares del CC en humanos. Sin embargo, en el momento actual existen limitaciones, no suficientemente resueltas, que merecen un comentario. En el apartado anterior ya se ha tratado la posibilidad de encontrar un CC fibrótico en algunos pacientes, lo que impediría completar el procedimiento quirúrgico. Otros aspectos a discutir son los relacionados con el procesamiento celular, con los lugares de implantación y con la variabilidad en la técnica quirúrgica.

VI.3.1.- Procesamiento celular.-

Con respecto a la preparación de los agregados celulares, en el segundo sub-estudio (y en la paciente A6 del primero) no se llevó a cabo tratamiento enzimático, con lo que se pudo reducir el tiempo quirúrgico. En estudios paralelos en animales se había determinado que este tratamiento no parecía incrementar la supervivencia de los implantes. Sin embargo, se desconoce su eventual utilidad en nuestro estudio, teniendo en cuenta especialmente que los pacientes del primer sub-estudio obtuvieron globalmente un mayor beneficio clínico.

VI.3.2.- Lugar de implantación.-

La principal diana fue el putamen posterior, por ser el área con mayor implicación en el control motor y encontrarse más afectada en la EP. Pero además, en todos los pacientes se realizaron otros dos implantes en cada putamen (medio y anterior). Mediante este abordaje se consideró que se aseguraba mejor la localización de los agregados celulares, puesto que cualquier desviación o problema técnico durante un único implante putaminal hubiera resultado más fácilmente en una cirugía fallida.

Dos pacientes del primer sub-estudio fueron implantados adicionalmente en la cabeza del núcleo caudado. Si bien se trata de una muestra muy pequeña, la evolución clínica y neuropsicológica de estos pacientes no difirió sustancialmente del resto. Este

dato podría sugerir la relativa preservación de las proyecciones nigricas al caudado y su menor contribución a las manifestaciones clínicas de la enfermedad.

VI.3.3.- Variabilidad técnica.-

Otro aspecto no suficientemente resuelto es la evaluación y mejora de la variabilidad técnica durante la implantación. En los estudios de laboratorio, algunos animales fueron transplantados de forma sub-óptima debido a esta inherente variabilidad (López-Barneo, comunicación personal). Es probable que este problema sea especialmente relevante durante la denominada “curva de aprendizaje”. En nuestro estudio, precisamente por problemas técnicos, uno de los pacientes de la primera serie fue trasplantado en el hemisferio izquierdo con menos agregados celulares de los previstos.

Aunque en el estudio mediante RM posquirúrgica (0'5 Tesla) se pudo comprobar en todos los casos la adecuada localización de los tractos quirúrgicos, no fue lo suficientemente sensible para determinar con exactitud el tamaño y localización de los implantes. Por tanto, hay que considerar la posibilidad de que hayan existido diferencias en el número de células correctamente implantadas dentro de cada estriado, sin que podamos concretar mejor el grado de variabilidad entre hemisferios y pacientes. La aplicación futura de nuevas técnicas de imagen con mayor resolución espacial podría contribuir a evaluar mejor este aspecto.

VI.4.- SEGURIDAD.-

La mayoría de los pacientes han tolerado bien el procedimiento quirúrgico, siendo dados de alta durante la primera semana tras la intervención. No obstante, algunos pacientes han presentado distintos efectos adversos, incluyendo una grave complicación postquirúrgica.

VI.4.1.- Complicaciones intracraneales.-

Las dos últimas pacientes intervenidas presentaron complicaciones intracraneales, quedando una de ellas con graves secuelas (véase el apartado V.2.2). Precisamente estas complicaciones son el principal riesgo de las intervenciones estereotácticas, con una incidencia en torno al 1-6% (Mínguez, 2000). Hay que tener en cuenta que, debido al pequeño tamaño muestral, la incidencia en nuestro estudio (15%) no ha sido significativamente superior a un valor máximo estimado del 5% ($p = 0,184$, prueba exacta de Fisher). Si asumimos este 5% en nuestro centro, la probabilidad de lo ocurrido (2 complicaciones intracraneales en 13 pacientes) habría sido de 1 entre 10, según un modelo de distribución binomial.

Precisamente este riesgo de complicaciones potencialmente graves limita la indicación de cualquier procedimiento quirúrgico a aquellos pacientes insuficientemente controlados con tratamiento farmacológico. De igual forma, por lo general se excluyen de tratamiento quirúrgico los pacientes con un mayor riesgo para estas complicaciones, como son: edad avanzada, atrofia cerebral, enfermedad cerebro-vascular previa o coagulopatías (Deuschl *et al.*, 2002).

VI.4.2.- Disquinesias.-

En los estudios abiertos sobre trasplante de mesencéfalo fetal se había descrito el empeoramiento de las disquinesias en situación “on” en algunos pacientes (Freed *et al.*, 1990, 1992; Defer *et al.*, 1996); siendo difícil establecer la implicación causal de la cirugía al existir otros factores asociados (heterogeneidad clínica de la EP, progresión de la enfermedad, cambios de medicación...). Sin embargo, han sido los recientes estudios doble-ciego los que han puesto de manifiesto un nuevo efecto adverso que

compromete seriamente la seguridad de estos trasplantes: la aparición de disquinesias persistentes en situación “off” hasta en el 56% de los pacientes, probablemente relacionadas con la restauración no fisiológica de la función dopaminérgica estriatal (Olanow *et al.*, 2003).

En nuestro estudio, las disquinesias en “on” habían mejorado globalmente al año del trasplante, pero una paciente experimentó un empeoramiento a partir de los 2 años de la cirugía. Se trataba precisamente de la única paciente que presentaba disquinesias severas antes de la intervención. Esta misma paciente asociaba basalmente distonía en situación “off”, que también se hizo más manifiesta a partir de los 2 años del trasplante. Si tenemos en cuenta las características basales de esta paciente (bajo umbral para disquinesias), que el empeoramiento fue diferido, y que no se asoció con un incremento en la dosis de medicación, pensamos que el aumento de las disquinesias probablemente esté relacionado con una reducción progresiva del umbral debido a la propia progresión de la enfermedad. Estos datos sugieren que la presencia de disquinesias severas podría suponer una contraindicación para el trasplante.

Ningún paciente trasplantado con agregados celulares del CC desarrolló, durante el periodo de estudio, disquinesias persistentes en situación “off” de características similares a las descritas en los trasplantes de mesencéfalo fetal (movimientos estereotipados de los miembros inferiores, de aparición progresiva a partir de los 6-12 meses del trasplante, sin incremento asociado de las disquinesias en “on”). Este hecho está en consonancia con la hipótesis de que las células del CC implantadas no producen por sí mismas altos niveles de dopamina estriatal, sino que su mecanismo de acción está relacionado con los efectos tróficos sobre el sistema nigro-estriado del huésped. De hecho, como se ha comentado en el apartado VI.2.2, el número de células glómicas trasplantadas ha sido mucho menor que el de neuronas fetales utilizadas en los distintos estudios.

VI.4.3.- Hipertensión arterial.-

Únicamente un paciente, previamente hipertenso, presentó un incremento de la tensión arterial a partir del primer mes tras la intervención. Aunque este dato no se asoció con otras características del síndrome por fallo barorreflejo (labilidad tensional,

ortostatismo o taquicardias), no puede excluirse su eventual relación con la lesión del nervio del seno carotídeo durante la cirugía. Este síndrome ha sido descrito tras la extirpación bilateral de tumores del CC y la subsiguiente denervación de los barorreceptores del seno carotídeo (Smit *et al.*, 2002). En estos casos, el grado de compensación a largo plazo por otros barorreceptores arteriales (aórticos y pulmonares) ha sido variable. Pero también se ha comunicado recientemente la aparición de este síndrome tras la extirpación de un tumor del CC unilateral (Gómez-Esteban *et al.*, 2004).

Si bien la extirpación bilateral del CC para un trasplante no se consideró aceptable por la subsiguiente alteración de las respuestas cardiorrespiratorias a la hipoxia (Honda, 1992), la posibilidad añadida de inducir un fallo barorreflejo apoya esta contraindicación. Pero además, la extirpación unilateral del CC podría ser inadecuada en aquellos pacientes hipertensos, o con alteración subclínica de los mecanismos barorreflejos compensatorios.

VI.4.4.- Otras complicaciones diferidas.-

Entre las complicaciones diferidas es de destacar la alta incidencia de fracturas o luxaciones secundarias a caídas durante el seguimiento a largo plazo (38% de los pacientes), si bien no contamos con un grupo control de características similares que nos permita establecer comparaciones. Aunque la relación directa con el procedimiento quirúrgico parece improbable, no puede excluirse una posible asociación indirecta: estos pacientes podrían haber forzado más su actividad física al sentirse mejor, poniéndose de manifiesto el trastorno subyacente de los reflejos de reequilibración. Esta complicación fue significativamente más frecuente en aquellos pacientes de mayor edad, por lo que una vez más este factor parece fundamental a la hora de establecer el balance beneficio/riesgo.

VI.5.- EFICACIA CLÍNICA.-

VI.5.1.- Resultados obtenidos y comparación con otros estudios.-

De los 12 pacientes analizados, 10 han experimentado algún grado de mejoría objetiva sobre las principales manifestaciones motoras de la EP en situación “off” (escala UPDRS III cegada). Esta mejoría ha sido máxima a los 6 meses del trasplante en 7 pacientes (entre el 5-74%) y al año en los 3 restantes (entre el 7-52%). Posteriormente la puntuación ha tendido progresivamente hacia su valor basal, aunque a los 3 años aún continuaban mejor 3 de los 6 pacientes con un mayor seguimiento. La mejoría experimentada fue importante ($\geq 33\%$) en algún momento evolutivo en 6 pacientes; sin embargo, solo una paciente mantuvo una mejoría importante durante toda la evolución (hasta 3 años).

Considerada la muestra globalmente ($n = 12$), el cambio en la escala UPDRS III cegada en “off” ha sido estadísticamente significativo a los 6 meses del trasplante (mejoría media del 23%). Los pacientes del primer sub-estudio ($n = 6$) han obtenido un mayor beneficio, con mejoría estadísticamente significativa tanto a los 6 meses (media del 31%) como al año del trasplante (media del 24%). En el grupo de 12 pacientes, la mejoría motora máxima se ha alcanzado a los 6-12 meses (media del 26%), y se ha acompañado de mejoría estadísticamente significativa en las distintas escalas funcionales en situación “off” y en la sub-escala de complicaciones (UPDRS IV). La dosis de medicación se redujo progresivamente durante el primer año una media del 10%, siendo esta disminución mayor del 25% en 4 pacientes.

Estos resultados, con mejoría clínica máxima a los 6-12 meses del trasplante, son reminiscentes de los principales estudios sobre trasplantes de mesencéfalo fetal en pacientes con EP avanzada (revisados en el apartado II.2.3). En este sentido, es necesario puntualizar que aquellos estudios que han comunicado unos resultados más optimistas se han basado en evaluaciones clínicas abiertas, centrándose algunos de ellos en la evolución a largo plazo de pacientes concretos (Lindvall *et al.*, 1994; Wenning *et al.*, 1997; Piccini *et al.*, 1999). Únicamente en los dos recientes estudios controlados con placebo se han analizado los cambios en la escala UPDRS III en “off” evaluada de

forma cegada en una muestra más amplia de pacientes. En el primero de estos estudios, la mejoría media al año del grupo tratado fue de un 18%, aunque en los pacientes más jóvenes (edad ≤ 60 años) alcanzó el 34% (Freed *et al.*, 2001). En el segundo estudio controlado, la mejoría máxima del grupo tratado se obtuvo entre los 6-12 meses (media del 14%); aunque en el sub-grupo con menor afectación basal (UPDRS III en “off” ≤ 49) que recibió más tejido (4 donantes por estriado) alcanzó el 20% (Olanow *et al.*, 2003). Estos estudios confirman la tendencia posterior hacia un empeoramiento motor gradual en el grupo tratado, probablemente relacionado con la progresión de la enfermedad. Asimismo, es de destacar la marcada variabilidad individual en la magnitud y duración de los cambios motores, obteniendo mejores resultados respecto a placebo los pacientes más jóvenes (o con mayor respuesta a levodopa) (Freed *et al.*, 2001, 2003), así como aquellos con enfermedad menos severa y trasplantados con más tejido fetal (Olanow *et al.*, 2003).

VI.5.2.- Factores explicativos de los cambios clínicos.-

Para explicar el origen de los cambios clínicos observados debemos considerar de forma sistemática las distintas fuentes de variabilidad que pueden actuar sobre las evaluaciones clínicas de los pacientes con EP avanzada, destacando especialmente la influencia sobre la variable principal de eficacia (UPDRS III cegada en “off”).

Sesgo del evaluador.-

Este sesgo podría explicar una parte importante de los cambios observados en estudios basados en evaluaciones abiertas, especialmente cuando han sido realizadas por los propios médicos implicados en la selección y seguimiento de los pacientes. Sin embargo, en nuestro estudio se ha asegurado el completo “cegamiento” del evaluador, que ha obtenido las puntuaciones de la escala UPDRS III a partir de secuencias de vídeo enmascaradas y presentadas de forma aleatoria (véase el apartado V.6.1).

A pesar de ello, la puntuación correspondiente a la “rigidez” se añadió a partir de las evaluaciones abiertas, por lo que podría haber introducido un sesgo favorable en la puntuación total. Sin embargo, precisamente esta sub-escala ha sido la única que no ha experimentado cambios estadísticamente significativos a los 6 y 12 meses del trasplante (**tablas V.11 y V.12**), por lo que no ha contribuido en gran medida a explicar los

cambios observados en la variable principal. En cualquier caso, las correlaciones entre las puntuaciones abiertas y cegadas de las sub-escalas “temblor”, “bradicinesia” y “axial” han sido muy estrechas, lo que nos confirma un adecuado nivel de objetividad en las evaluaciones abiertas.

No puede excluirse, sin embargo, la contribución del “sesgo del evaluador” sobre otras variables secundarias, como las escalas funcionales en “off” o la sub-escala UPDRS IV. En cualquier caso, la mejoría sobre estas variables a los 6 meses del trasplante estuvo asociada con la mejoría en la UPDRS III cegada. Además, una gran parte de la variabilidad en el cambio de estas escalas a los 6 meses también pudo explicarse por factores prequirúrgicos relacionados con el huésped (véase apartado V.6.2).

Diferencias en el estado motor.-

La variable principal se ha obtenido en situación “off basal”, definida como la que presenta el paciente por la mañana, tras haber suspendido la medicación antiparkinsoniana durante 12 horas, y al menos una hora después de despertarse (Langston *et al.*, 1992). Esta definición es eminentemente práctica, ya que permite estandarizar el momento de las evaluaciones clínicas en los pacientes con EP avanzada, haciendo posible establecer comparaciones en el tiempo y entre distintos estudios.

Sin embargo, parece razonable pensar que la situación motora que presentan los pacientes en estas condiciones no es siempre un reflejo exacto del estado dopaminérgico basal de la enfermedad. Por una parte, la duración de la respuesta a la levodopa es variable, acortándose progresivamente con la evolución de la EP. En este sentido, es probable que la dosis, y la vida media de los fármacos dopaminérgicos, influyan también de forma variable sobre la situación motora tras 12 horas sin medicación. Por otro lado, existen otros factores de difícil control que pudieran modificar el estado motor del mismo paciente en cada evaluación, como por ejemplo: la duración y calidad del sueño durante la noche previa, la presencia de otros problemas de salud, los efectos de otros tratamientos, o la situación emocional.

Aunque es posible que esta fuente de variabilidad explique algunos valores extremos de la UPDRS III en alguna de las evaluaciones, es improbable que haya influido en gran medida en el origen de los cambios medios observados. Precisamente la existencia de una secuencia definida en estos cambios (con mejoría máxima a los 6-12 meses y posterior deterioro gradual), no sería fácilmente explicable por esta causa.

La dosis de medicación tampoco se ha relacionado con los cambios clínicos de nuestro estudio, ya que se produjo una reducción progresiva durante el primer año, precisamente más acusada en algunos de los pacientes que obtuvieron una mayor mejoría motora.

Variabilidad “test-retest”.-

En el caso hipotético de que el estado motor en “off” de un mismo paciente fuera idéntico de una evaluación a otra, la propia repetición de cualquier prueba conlleva una variabilidad intrínseca, tanto si es realizada por el mismo observador (intra-observador) como por un otro distinto (inter-observador). Sin embargo, en el caso de la escala UPDRS III, se ha demostrado que posee una adecuada fiabilidad en ambos sentidos (Fahn *et al.*, 1987; Martínez-Martín *et al.*, 1994). En nuestro estudio, la puntuación de esta escala fue obtenida por el mismo investigador cegado con el fin de evitar la variabilidad inter-observador. Aunque no puede excluirse cierto grado de variabilidad intra-observador en las evaluaciones secuenciales, difícilmente podría explicar la magnitud y secuencia temporal de los cambios observados.

Efecto placebo.-

Una de las principales consideraciones a la hora de analizar los resultados de un estudio de estas características es la indeterminación del efecto placebo. Los recientes estudios controlados sobre trasplantes de mesencéfalo fetal han confirmado que este efecto puede ser importante en algunos pacientes con EP avanzada incluidos en un procedimiento quirúrgico experimental.

En el primero de estos estudios, se ha visto que la creencia de los pacientes de pertenecer al grupo tratado o al grupo placebo sufre numerosos cambios a lo largo de la

evolución y que, en los momentos que sospechan que han sido trasplantados, las puntuaciones en las escalas clínicas tienden a ser más favorables (McRae *et al.*, 2004). Este efecto ha sido más acusado en las escalas con mayor carga subjetiva, como las de calidad de vida, pero también han puntuado mejor en las escalas objetivas evaluadas por investigadores cegados. Sobre este punto no puede excluirse que la opinión del paciente, manifestada en el momento de la evaluación clínica, pudiera haber condicionado en parte a los investigadores (“sesgo del evaluador”). En este sentido, las evaluaciones mediante vídeo, como las llevadas a cabo en nuestro estudio, podrían suponer una clara ventaja al reducir esta posibilidad.

A pesar de todo ello, la magnitud media del efecto placebo sobre la escala UPDRS cegada en “off” no ha sido importante en estos dos estudios controlados. En cada uno de los respectivos grupos placebo (n = 20 y n = 11), esta escala solo ha mejorado de forma puntual, sin llegar a superar el 3% y sin un patrón temporal definido (**tablas VI.1 y VI.2**). En el análisis por subgrupos, únicamente los pacientes más jóvenes del primer estudio tuvieron una mejoría máxima del 10% en la escala UPDRS total a los 4 meses del trasplante (**tabla VI.1**). En el segundo estudio, el efecto placebo solo fue destacable en los pacientes con enfermedad más severa, con una mejoría máxima del 25% en la escala UPDRS III al año del trasplante (**tabla VI.2**).

| Efecto placebo: UPDRS total en “off” | Total n = 20 | edad ≤ 60 n = 11 | edad > 60 n = 9 |
|---|-------------------------|-----------------------------|-------------------------------|
| Basal | 66 | 61 | 71 |
| 4 meses | 64 (- 3 %) | 55 (- 10%) | 70 (- 1 %) |
| 8 meses | 66 (0 %) | 59 (- 3 %) | 71 (0 %) |
| 1 año | 66 (0 %) | 60 (- 2 %) | 70 (- 1 %) |

Tabla VI.1.- Evolución de la escala UPDRS total en “off” en el grupo placebo del primer estudio controlado sobre trasplantes de mesencéfalo fetal (Freed *et al.*, 2001). Los valores han sido extraídos de las gráficas publicadas y, por tanto, son aproximados. Entre paréntesis se indica el porcentaje de cambio respecto a la puntuación basal (los valores negativos indican mejoría).

| Efecto placebo: UPDRS III en “off” | Total n = 11 | UPDRS III ≤ 49 n = 6 | UPDRS III > 49 n = 5 |
|---|-------------------------|---------------------------------|------------------------------------|
| Basal | 51 | 43 | 61 |
| 6 meses | 53 (+ 8 %) | 52 (+ 21 %) | 55 (- 10 %) |
| 1 año | 50 (- 2 %) | 54 (+ 26 %) | 46 (- 25%) |
| 2 años | 60 (+ 22 %) | 62 (+ 44 %) | 56 (- 8 %) |

Tabla VI.2.- Evolución de la escala UPDRS III en “off” en el grupo placebo del segundo estudio controlado sobre trasplantes de mesencéfalo fetal (Olanow *et al.*, 2003). Véase la leyenda de la tabla VI.1.

Al igual que en estos estudios sobre trasplante fetal, debemos considerar probable que una parte de los cambios clínicos documentados en nuestros pacientes haya sido debida al efecto placebo. Con respecto a la variable principal de eficacia clínica (UPDRS III en “off” evaluada de forma cegada mediante vídeo), este efecto podría haber sido más relevante en alguna evaluación, siendo mayor la sospecha si la puntuación es discordante de la obtenida en las evaluaciones más próximas.

Sin embargo, consideramos improbable que el efecto placebo justifique por sí solo la magnitud y evolución temporal de los cambios medios observados en la muestra global. Por una parte, como hemos visto en los estudios controlados sobre trasplante fetal, el cambio medio sobre esta escala en los grupos asignados a cirugía placebo ha sido irrelevante. Por otra parte, la evolución de nuestros pacientes, con una mejoría máxima del 26% a los 6-12 meses y tendencia posterior hacia la puntuación basal, es muy similar a la seguida por el sub-grupo más favorable (con enfermedad más leve y más cantidad de tejido fetal trasplantado) del segundo estudio controlado, que fue significativamente diferente a placebo (Olanow *et al.*, 2003).

Otro argumento en contra de atribuir al efecto placebo la mayor parte de los cambios observados en esta escala es la evolución seguida por el paciente A5, que únicamente fue trasplantado satisfactoriamente en el hemisferio derecho, siendo desconocida esta circunstancia por el paciente y por los evaluadores: la sub-escala correspondiente al hemicuerpo derecho de la UPDRS III cegada en “off” no mejoró a lo

largo de la evolución, mientras que la correspondiente al hemicuerpo izquierdo, basalmente más afectado, experimentó una mejoría del 55% a los 6 meses, con tendencia progresiva posterior hacia la puntuación basal (**figura V.5**).

El análisis de los factores pronósticos relacionados con el cambio en la escala UPDRS III cegada en “off” a los 6 meses del trasplante nos indica que, a igualdad de otras variables, la integridad histológica del CC (evaluada asimismo de forma cegada) constituye el principal factor predictor de mejoría (**tabla V.22**). Este hallazgo sugiere fuertemente que la mayor parte de los cambios observados en esta escala están relacionados con los efectos biológicos del trasplante, como se discutirá más adelante.

Con respecto a otras escalas clínicas con mayor carga subjetiva, es probable que el efecto placebo haya tenido una mayor relevancia. La sub-escala UPDRS II en “off” (que evalúa la discapacidad en las actividades cotidianas) mejoró de forma significativa una media del 16% a los 6 meses, lo que coincidió con mejoría objetiva en la UPDRS III cegada y también se correlacionó con la integridad histológica del CC y otras variables biológicas del huésped (**tabla V.24**). Sin embargo, al año del trasplante, la mejoría media fue mayor (20%), a pesar de no existir cambio significativo en la UPDRS III cegada y ser menor la correlación con las mismas variables biológicas. Estos datos sugieren que probablemente la puntuación en la escala UPDRS II en “off” al año pudiera estar sobredimensionada por el efecto placebo.

La calidad de vida solo fue evaluada en los 6 pacientes del segundo sub-estudio. La mayoría de ellos mejoró de forma variable su puntuación en el cuestionario PDQ-39 a los 6 y 12 meses, asociándose de forma significativa con la mejoría en la sub-escala UPDRS II en “off”, pero no con el cambio en la UPDRS III cegada. Además, la mejoría fue mayor en aquellos con peor calidad de vida prequirúrgica. Estos datos sugieren una probable contribución del efecto placebo en las puntuaciones postquirúrgicas de este cuestionario.

De igual forma, 4 de los 6 pacientes evaluados mediante la escala de “Impresión Clínica Global” se sintieron subjetivamente “mejor” al año del trasplante, a pesar que 2 de ellos habían empeorado de forma objetiva en la escala UPDRS III en “off”. Asimismo, tanto a los 6 como a los 12 meses, varios pacientes que habían puntuado

peor en el cuestionario PDQ-39 consideraron que se encontraban “igual” que antes de la cirugía (**figura V.9**). Estos casos ilustran la importancia que puede tener el efecto placebo en la valoración subjetiva de algunos pacientes. El primero de los estudios controlados sobre trasplantes de mesencéfalo fetal ha abordado esta cuestión (Freed *et al.*, 2001). La variable principal de este estudio fue la apreciación subjetiva de cambio mediante una escala de -3 hasta +3, según el paciente se sintiera peor (valores negativos) o mejor (valores positivos) que antes de la cirugía. Sin embargo, a pesar de que algunos pacientes tuvieron un importante efecto placebo en algunas evaluaciones (McRae *et al.*, 2004), éste no fue relevante como promedio al año del trasplante: el grupo trasplantado puntuó 0 y el grupo placebo - 0'4 (sin diferencias significativas). Además, las puntuaciones solo fueron positivas en el sub-grupo de pacientes trasplantados más jóvenes, precisamente aquellos que habían mejorado más en la escala UPDRS III en “off” (Freed *et al.*, 2001).

Efectos de la lesión.-

Podría considerarse que los efectos clínicos observados en nuestro estudio fueran parcialmente debidos a la lesión quirúrgica. De hecho, se conoce desde antiguo que distintas lesiones en los ganglios basales pueden mejorar los síntomas motores de la EP, lo que supuso el desarrollo empírico de la cirugía funcional hacia la mitad del pasado siglo XX (Gildenberg, 1998). Sin embargo, las lesiones estriatales no modifican positivamente los mecanismos fisiopatológicos de la enfermedad, al contrario de lo que ocurre con las lesiones en el globo pálido medial o en el núcleo subtalámico (Obeso *et al.*, 1997a). En el hombre, las lesiones en el putamen producen con frecuencia distonía contralateral, habiéndose descrito también casos de parkinsonismo tras lesiones bilaterales; mientras que las lesiones en el caudado suelen acompañarse predominantemente de trastornos del comportamiento (abulia, desinhibición) (Bathia y Marsden, 1994).

En el caso de los trasplantes, también se ha postulado que parte de los efectos pudieran estar relacionados con mecanismos neurotróficos intrínsecos activados por el trauma quirúrgico (Batchelor *et al.*, 1999; Song y Haber, 2000). Sin embargo, en los estudios sobre los trasplantes del CC no se ha llegado a observar reinervación estriatal

ni efectos conductuales en los animales control intervenidos (Espejo *et al.*, 1998; Luquín *et al.*; 1999; Toledo-Aral *et al.*, 2003, Shukla *et al.*, 2004).

En pacientes con EP, López-Lozano y colaboradores compararon los efectos clínicos de una caudotomía realizada mediante radiocirugía (n = 4) con los de un co-trasplante de médula adrenal y nervio periférico (n = 4) (López-Lozano *et al.*, 1999, 2000). Solo uno de los pacientes del primer grupo tuvo una leve mejoría transitoria sobre la rigidez y la bradicinesia contralateral, siendo estos resultados claramente diferentes de los obtenidos por los pacientes trasplantados. Posteriormente, los pacientes del primer grupo fueron también sometidos a este trasplante, habiéndose comunicado una destacada mejoría clínica.

En nuestro estudio, la evolución del paciente A5 nos confirma la ausencia de efectos significativos relacionados con el trauma quirúrgico. Como se ha dicho, este paciente recibió trayectos quirúrgicos en ambos estriados (3 en cada putamen y 1 en la cabeza de cada núcleo caudado) pero, por problemas técnicos, solo fue implantado satisfactoriamente en el hemisferio derecho: únicamente el hemicuerpo izquierdo mostró una mejoría motora significativa en las evaluaciones “doble-ciego”, teniendo en cuenta que tanto el paciente como los evaluadores desconocían la asimetría en la implantación.

Efectos biológicos del trasplante.-

Por último, consideramos que la mayor parte de los cambios clínicos sobre la variable principal de eficacia clínica han sido debidos a los efectos biológicos de las células trasplantadas. Aunque algunos de los factores discutidos previamente (principalmente el efecto placebo) pudieran explicar en parte algunos valores puntuales, difícilmente podrían justificar la magnitud y evolución temporal de los cambios medios observados en la muestra global.

El análisis de los factores pronósticos nos apoya esta hipótesis. A igualdad de otras variables clínicas, el principal factor predictor de mejoría a los 6 meses del trasplante ha sido la **integridad histológica del CC**, que fue evaluada de forma “cegada” a partir de una pequeña porción periférica (véase el apartado IV.8). Hemos

visto que los efectos clínicos han sido más pobres en el segundo sub-estudio, pese a tratarse de pacientes con características similares y haber sido evaluados con la misma metodología. Es interesante destacar que la influencia de la integridad histológica del CC ha sido significativamente menor en este segundo sub-estudio, a igualdad de otras variables clínicas. Pensamos que este hecho solo puede ser explicado por la variabilidad técnica durante el procesamiento celular y/o la implantación, lo que implicaría un mayor número de implantes sub-óptimos en esta segunda serie de intervenciones. Teniendo esto en cuenta, hasta el 82% de la variabilidad en la mejoría motora a los 6 meses estaría condicionada por el número de células funcionalmente activas que han sido correctamente implantadas en regiones críticas del putamen (**tabla V.22**). Esta asociación “dosis-respuesta”, y su relación con la variabilidad técnica, ya fueron sospechadas a partir de la evolución del paciente A5, puesto que solo mejoró significativamente el hemisferio contralateral al putamen trasplantado con un mayor número de agregados celulares.

Pero además de la cantidad de células correctamente implantadas, otras variables clínicas de los pacientes fueron también predictores de la mejoría motora:

- a) Una **menor edad** se asoció con un cambio motor más favorable, siendo el principal factor de la persistencia de mejoría al año del trasplante, a igualdad de otras variables (**tabla V.23**).
- b) Una **enfermedad menos severa** (menor estadio de Hoehn y Yahr en “off”) fue también un factor pronóstico positivo sobre la evolución motora, si bien perdió significación estadística en el análisis multivariante. Asimismo, el menor estadio fue el principal predictor independiente sobre la mejoría funcional en “off” (UPDRS II) durante todo el primer año de evolución. También se observó una tendencia hacia una evolución motora más favorable en aquellos pacientes que conservaban una mayor captación basal de ^{18}F -dopa en el putamen, siendo preciso un valor K_i mayor de 0’005 para obtener algún grado de mejoría clínica al año del trasplante.

Es importante destacar que estas variables clínicas no se asociaron de forma significativa con la integridad histológica del CC (paciente como donante), por lo que su papel se explicaría en el contexto del paciente como huésped del trasplante.

Precisamente estas variables relacionadas con el huésped, junto con la “dosis” de tejido, han sido también los principales factores predictores en los estudios controlados sobre trasplantes de mesencéfalo fetal (Freed *et al.*, 2001; Olanow *et al.*, 2003). Por el contrario, el efecto placebo sobre la escala UPDRS III en “off” solo persistió a medio plazo en aquellos pacientes con enfermedad más severa (Olanow *et al.*, 2003). Estos datos apoyan fuertemente que los cambios motores objetivos observados en nuestro estudio han sido debidos principalmente a los efectos biológicos del trasplante.

VI.5.3.- Relevancia clínica de los resultados.-

Aunque nuestro estudio ha demostrado eficacia clínica relacionada con los efectos biológicos del trasplante, es preciso reconocer que la relevancia de estos resultados, en cuanto a magnitud y duración, ha sido escasa para la mayoría de los pacientes, si tenemos en cuenta su contexto clínico global (véase el apartado VI.1.3). En este sentido, las conclusiones de los recientes estudios controlados sobre trasplantes de mesencéfalo fetal en pacientes con EP avanzada han sido similares.

La mejoría motora máxima en situación “off” no ha superado, como media, un 26% a los 6-12 meses, lo que equivale a menos de la mitad del efecto de una dosis adecuada de levodopa en estos pacientes. Si bien se ha asociado con mejoría en la capacidad funcional en “off” y en la sub-escala de complicaciones, no han existido cambios significativos sobre otras variables relevantes, como el tiempo pasado en “off” o la calidad de vida (aunque esta última solo se estudió en un sub-grupo de pacientes). Además, la mejoría clínica fue reduciéndose progresivamente, con tendencia media hacia la situación basal a partir del año del trasplante. Como consecuencia de los resultados insatisfactorios a largo plazo, dos pacientes fueron intervenidos mediante ECP bilateral a los 2 y 3 años de seguimiento.

A pesar de estos modestos resultados clínicos, hay que tener en cuenta que algunos pacientes concretos han obtenido un mayor beneficio. La paciente A2 obtuvo una reducción importante ($\geq 33\%$) en la escala UPDRS III cegada en “off” durante toda la evolución (3 años de seguimiento), acompañándose de mejoría funcional y reducción del tiempo “off”, así como una relativa estabilización clínica de la enfermedad en los

años siguientes. Esta paciente poseía un alto grado de integridad histológica del CC (4 +), a la vez que se encontraba entre los valores más bajos de edad y severidad basal de la enfermedad. Es posible que esta paciente tuviera una forma de EP lentamente evolutiva (aunque no disponemos de marcadores objetivos de esta “tasa de progresión” basal), lo que podría explicar el mantenimiento de los efectos clínicos a largo plazo, con aparente estabilización de la enfermedad. Pero también debemos considerar la posibilidad de que el trasplante hubiera influido positivamente sobre el curso evolutivo posterior, es decir, que hubiera ejercido un efecto neuroprotector sobre el sistema nigro-estriado.

Como conclusión, parece claro que la selección de los pacientes idóneos es, junto a la cantidad de células funcionalmente activas y la optimización de los procedimientos, un punto clave para el desarrollo futuro de esta u otras terapias celulares. Hay que tener en cuenta que, desde un punto de vista estrictamente científico, lo que se puede esperar de cualquier tratamiento potencialmente neuroprotector o neuroregenerativo es modificar el curso evolutivo de la enfermedad en pacientes con EP inicial, más que mejorar de forma importante a pacientes con EP avanzada.

VI.6.- EFECTOS NEUROQUÍMICOS.-

VI.6.1.- Resultados obtenidos y comparación con otros estudios.-

Los 7 pacientes del segundo sub-estudio fueron estudiados mediante PET con ^{18}F -dopa prequirúrgico y al año del trasplante. Globalmente no se han objetivado cambios estadísticamente significativos en los valores K_i de putamen y caudado, aunque ha existido una marcada variabilidad entre pacientes y hemisferios. Varios pacientes han experimentado un aumento de captación en algunas áreas, sobre todo en el putamen más afectado por la enfermedad.

Hay que considerar que los efectos neuroquímicos de los agregados celulares del CC podrían haber sido infraestimados en nuestro estudio, si tenemos en cuenta que los pacientes estudiados mediante PET obtuvieron un menor beneficio clínico, probablemente por ser implantados de forma sub-óptima (véase la discusión previa en el apartado VI.5.2: “*efectos biológicos del trasplante*”). Precisamente la variabilidad técnica podría ser en parte la causa de la marcada variabilidad observada entre pacientes y hemisferios. Además, el PET postquirúrgico se realizó a los 12 meses, mientras que el beneficio clínico fue máximo a los 6 meses del trasplante. En este sentido es de destacar que los cambios en el SPECT en una de las pacientes estudiadas fueron muy acusados a los 6 meses, pero se habían perdido al año del trasplante (**tabla V.17 y figura V.10**).

En cualquier caso, estos resultados contrastan con los principales estudios sobre trasplante de mesencéfalo fetal humano, en los que se han documentado incrementos medios en la captación putaminal de ^{18}F -dopa de alrededor un 40% a los 12 meses (Freed *et al.*, 1991), existiendo una tendencia hacia un cambio más favorable en los pacientes trasplantados con más tejido (Olanow *et al.*, 2003). Esta discrepancia podría estar en relación con el distinto número de células dopaminérgicas implantadas. En los trasplantes fetales se han utilizado millones de neuronas que, a pesar de su relativamente baja supervivencia (5%), son capaces de incrementar cuantitativamente la función dopaminérgica estriatal. Por el contrario, en nuestro estudio se han implantado del orden de decenas de miles de células glómicas. Pero además, en los pacientes que han sido

estudiados mediante PET, el número de células correctamente implantadas en el putamen podría haber sido aún menor, debido a la variabilidad técnica antes comentada.

Sin embargo, como se discutirá después, se piensa que el mecanismo de acción de los trasplantes del CC no reside en la restauración dopaminérgica estriatal, sino en los efectos tróficos mediados por el GDNF sobre el sistema nigro-estriatal del huésped. Se han estudiado los cambios neuroquímicos mediante PET tras la infusión intraputamina de GDNF en 5 pacientes con EP (Gill *et al.*, 2003): aunque los autores destacan un incremento medio del 28% en la captación de ^{18}F -dopa alrededor de la punta del catéter, globalmente no hubo cambios significativos en la captación estriatal, con tendencia hacia un declinar progresivo. Es probable que el incremento focal esté relacionado con el efecto farmacológico de la infusión, al inducir localmente la liberación de dopamina. En ese caso, los cambios neuroquímicos globales tras la infusión de GDNF no habrían diferido sustancialmente de los observados en nuestro estudio.

VI.6.2.- Factores explicativos de los cambios neuroquímicos.-

A continuación revisaremos de forma sistemática las distintas fuentes de variabilidad que pudieran explicar parcialmente los cambios neuroquímicos observados.

Sesgo del evaluador.-

Es improbable que este sesgo haya contribuido a los cambios en los valores K_i , teniendo en cuenta que se trata de una cuantificación objetiva llevada a cabo por un equipo de investigación independiente (véase el apartado IV.7.1).

Variabilidad “test-retest”.-

La denominada variabilidad “test-retest” está relacionada con la precisión del instrumento de medida y podría explicar una parte de los cambios neuroquímicos en el PET. Con la tecnología actual utilizada en el Hospital Hammersmith de Londres (que incluye un sistema de corrección del movimiento con capacidad para alinear con exactitud las imágenes tridimensionales), se estima que la variabilidad “test-retest” del valor K_i del putamen es del 2% en sujetos normales, y se eleva al 5% en pacientes con

EP inicial (Brooks, 2003). En pacientes con EP avanzada, cuyo valor Ki basal es aún más reducido, el porcentaje de variabilidad podría ser mayor. En estas circunstancias, el movimiento del paciente durante la adquisición de las imágenes podría ser una de las principales fuentes de variabilidad (Hotton, comunicación personal).

Sin duda este puede ser el origen de parte de los cambios observados en los valores Ki al año del trasplante, especialmente en aquellas áreas con porcentajes de cambio más extremos. En ese caso, podría justificar parcialmente la marcada variabilidad entre pacientes y hemisferios, así como la tendencia hacia un mayor cambio en aquellas áreas más afectadas por la enfermedad (véase el análisis de los factores pronósticos en el apartado V.6.3).

Efecto placebo.-

No existen datos científicos para pensar que el efecto placebo pueda modificar la captación estriatal de ^{18}F -dopa. En cualquier caso, en los dos recientes estudios controlados sobre trasplantes de mesencéfalo fetal, no han existido cambios neuroquímicos estadísticamente significativos en los grupos asignados a placebo, observándose una tendencia hacia un declinar progresivo que podría explicarse por la propia progresión de la enfermedad (Freed *et al.*, 2001; Olanow *et al.*, 2003).

Evolución natural de la EP.-

En la evolución natural de la EP se estima que la reducción anual de la captación putaminal de ^{18}F -dopa oscila entre un 6-13%, en comparación con un 0-2'5% en controles normales (Morrish *et al.*, 1998; Marek *et al.*, 2003). Los pacientes con EP avanzada asignados al grupo placebo en el estudio controlado de Denver/Nueva York experimentaron una reducción media no significativa del 2% en un año (Freed *et al.*, 2001). En un paciente intervenido por el grupo sueco, la reducción en el valor Ki del putamen contralateral al trasplantado con células fetales fue de alrededor un 8% al año, un 17% a los 3 años, un 36% a los 6 años y un 75% a los 10 años (según puede calcularse de forma aproximada a partir del gráfico publicado) (Piccini *et al.*, 1999).

Teniendo en cuenta la naturaleza progresiva de la EP, es de destacar que nuestros pacientes no han presentado una reducción estadísticamente significativa en la captación putaminal media de ^{18}F -dopa durante el año posterior al trasplante. Al contrario, ha existido una tendencia no significativa hacia un incremento medio del 5%. Únicamente 3 de los 7 pacientes estudiados tuvieron una reducción que podría estar relacionada con la progresión natural de la enfermedad (3%, 13% y 14% respectivamente). Lamentablemente, no disponemos de estudios seriados mediante PET previos al trasplante que nos permitan conocer si la tasa de progresión basal se ha modificado después de la cirugía.

Efecto de la lesión.-

Se desconoce si la realización de trayectos quirúrgicos en el estriado puede modificar sustancialmente la captación de ^{18}F -dopa en el PET. En los estudios controlados sobre trasplantes fetales, la cirugía placebo consistió en la realización de orificios de trépano, sin penetración intracraneal, por lo que la reducción media de un 2% al año en el putamen puede atribuirse enteramente a la evolución de la enfermedad (Freed *et al.*, 2001). Es probable que, en el caso de lesiones estriatales de suficiente tamaño, la captación de ^{18}F -dopa pueda reducirse aún más, como consecuencia de la pérdida de terminales presinápticas y la gliosis secundaria en las áreas volumétricas analizadas. Sin embargo, en nuestro estudio, la lesión secundaria a los trayectos quirúrgicos fue mínima en los estudios mediante RM y, en cualquier caso, no hubo diferencias destacables entre los pacientes que pudieran justificar parte de la variabilidad en el PET.

Efectos biológicos del trasplante.-

Como hemos revisado, es probable que los cambios más extremos observados sean debidos en parte a la variabilidad “*test-retest*” en relación con el movimiento cefálico durante la prueba, mientras que el resto podrían atribuirse a la progresión natural de la EP. Sin embargo, a pesar de que probablemente los efectos neuroquímicos hayan sido infraestimados en estos pacientes, se ha documentado una clara correlación con los efectos clínicos, lo que apoya la existencia de un efecto biológico del trasplante.

Efectivamente, la evolución de la captación putaminal media de ^{18}F -dopa en el año posterior a la cirugía ha sido significativamente más favorable en aquellos pacientes que obtuvieron una mayor mejoría motora (a los 6-12 meses), a pesar del pequeño tamaño muestral ($n = 6$) (**tabla V.19 y figura V.14**). Al analizar por separado los hemisferios basalmente más o menos afectados por la enfermedad, esta asociación solo fue estadísticamente significativa entre el putamen basalmente menos afecto y el hemicuerpo contralateral de cada paciente. A nuestro juicio, estos hechos podrían tener dos explicaciones no excluyentes:

- a) Si los cambios neuroquímicos fueran mayoritariamente explicados por la propia evolución natural de la enfermedad, en ese caso podríamos afirmar que la repercusión clínica de los trasplantes del CC ha sido mayor en aquellos pacientes (y hemisferios) basalmente menos afectados y con una menor tasa de progresión de la enfermedad. Este dato estaría en consonancia con los factores pronósticos clínicos ya conocidos (véase la discusión en el apartado VI.5.2), y se sumaría a apoyar la hipótesis de que los cambios clínicos observados en nuestro estudio están relacionados con los efectos biológicos del trasplante. De hecho, difícilmente podría justificarse que el efecto placebo fuera mayor en los hemicuerpos menos afectados de aquellos pacientes con una evolución más lenta en el PET; especialmente si tenemos en cuenta que, en un estudio controlado, el efecto placebo ha demostrado ser mayor en los pacientes con enfermedad más severa (Olanow *et al.*, 2003).
- b) Por otro lado, también podría ocurrir que aquellos pacientes que han mejorado más a los 6-12 meses debido a un trasplante más efectivo (en cuanto a número de células activas correctamente implantadas), hubieran experimentado una evolución más favorable en el PET durante el año posterior al trasplante. En ese caso, las células implantadas habrían ejercido un efecto neuroprotector sobre el sistema nigro-estriatal del huésped, enlenteciendo la evolución de la enfermedad. Precisamente este efecto habría sido mayor en los hemisferios menos afectados por la EP, lo que está en consonancia con el efecto trófico demostrado en los estudios en animales.

En definitiva, de una u otra forma, el análisis de los cambios en el PET sugiere la existencia de efectos biológicos producidos por el trasplante. Aunque, según se ha expuesto, podemos sospechar la posibilidad de un efecto neuroprotector añadido, en realidad no disponemos de pruebas definitivas en este sentido. Por una parte, aunque hemos observado una tendencia hacia una evolución neuroquímica más favorable a mayor integridad histológica del CC (**figura V.25**), lo que apoyaría esta hipótesis, la asociación no alcanzó significación estadística. Sin embargo, en este sub-grupo de pacientes, tampoco alcanzó significación estadística la relación entre la histología y los cambios motores (**figura V.17**), posiblemente por haber sido implantados globalmente de forma sub-óptima. Por otro lado, tampoco disponemos de estudios seriados mediante PET previos a la intervención que nos permitan conocer si la tasa de progresión de la enfermedad se ha modificado como consecuencia del trasplante.

VI.7.- MECANISMO DE ACCIÓN DE LOS TRASPLANTES.-

Nuestro estudio ha demostrado que los trasplantes del CC pueden inducir cambios sobre las manifestaciones clínicas de la EP atribuibles a los efectos biológicos de las células implantadas. Al igual que en otras formas de terapia celular, hay que contemplar principalmente dos mecanismos de acción que se revisarán a continuación.

VI.7.1.- Mecanismo dopaminérgico directo.-

Todas las evidencias apuntan a que se trata del mecanismo de acción fundamental de los trasplantes de tejido mesencefálico fetal. Los estudios de neuroimagen funcional e histológicos han demostrado que las células fetales son capaces de sobrevivir y reinervar el estriado de forma progresiva, restableciendo el déficit dopaminérgico estriatal de una forma “dosis-dependiente” (en relación con el número de células implantadas). Sin embargo hoy en día sabemos, a partir de los recientes estudios controlados, que la restauración dopaminérgica cuantitativa del estriado no es suficiente en los pacientes con EP avanzada. De hecho, la mejoría clínica ha sido de escasa magnitud y duración, estando relacionada con otros factores del huésped, como su menor edad y enfermedad más leve. Además, hasta el 56% de los pacientes han desarrollado disquinesias persistentes en situación “off”, probablemente secundarias a la restauración no fisiológica de la función dopaminérgica en un estriado progresivamente denervado. Otras estrategias planteadas recientemente, como el trasplante de células retinianas encapsuladas, e incluso el trasplante de células madre productoras de dopamina, actuarían también a través de este mecanismo dopaminérgico directo.

Por el contrario, aunque las células glómicas del CC son dopaminérgicas, no parece ser éste su mecanismo de acción fundamental tras el trasplante. En los primeros estudios animales ya se observó la marcada desproporción existente entre el relativamente escaso número de células trasplantadas y la intensidad de sus efectos conductuales, neuroquímicos e histológicos. En nuestro estudio en pacientes con EP avanzada se han obtenido unos resultados clínicos comparables a los del trasplante de mesencéfalo fetal, a pesar de haberse implantado un número de células mucho menor

(véase el apartado VI.2.2). Además, ningún paciente ha desarrollado disquinesias persistentes en situación “off”, ni se ha documentado un incremento medio significativo en la captación putaminal de ^{18}F -dopa mediante PET.

VI.7.2.- Mecanismo de acción trófico.-

En estudios animales se ha observado que la recuperación motora tras el trasplante del CC depende de la reinervación dopaminérgica del estriado (que ocurre incluso en áreas alejadas del implante) a partir de las propias neuronas nigro-estriatales del huésped (Toledo-Aral *et al.*, 2003). Son condiciones necesarias que las células glómicas implantadas sobrevivan a largo plazo y que el daño producido por la enfermedad sea parcial. Estos datos demuestran que el mecanismo de acción de los trasplantes del CC es efectivamente la restauración trófica del sistema nigro-estriatal.

En nuestro estudio en pacientes con EP avanzada no hemos obtenido datos definitivos en este sentido, aunque el análisis de los cambios en el PET sugiere la posibilidad de un efecto neuroprotector que, de forma congruente con los estudios animales, sería más acusado en el putamen menos afectado por la enfermedad (véase discusión en el apartado VI.6.2 “*Efectos biológicos del trasplante*”).

A su vez, estos efectos tróficos podrían estar mediados por los siguientes mecanismos:

- a) **Por factores neurotróficos.**- Se ha demostrado que las células glómicas de los roedores adultos producen altos niveles de GDNF y del complejo receptor multicomponente para GDNF, muy superiores a los detectados en otras células neurales y paraneurales, y además esta producción se mantiene a largo plazo en las células trasplantadas (López-Barneo y Toledo-Aral, comunicación personal). Asimismo, también se han detectado otros factores, como BDNF, que podrían ejercer una acción sinérgica (Ericsson *et al.*, 2001). Por todo ello, se considera que la producción de factores neurotróficos, principalmente GDNF, es el mecanismo de acción fundamental de los trasplantes del CC.
- b) **Por el trauma quirúrgico.**- Se ha sugerido la existencia de un neurotrofismo inespecífico desencadenado por el daño cerebral, que podría estar mediado por el

propio tejido neural, o por la acción de los macrófagos (Batchelor *et al.*, 1999; Song y Haber, 2000). Sin embargo, la ausencia de reinervación estriatal en los animales control intervenidos hacen poco probable que sea este el mecanismo de acción de los trasplantes. Además, en recientes experimentos se ha demostrado que, ni el trasplante del CC, ni la propia lesión cerebral, son capaces de inducir un incremento en la síntesis de GDNF por el parénquima cerebral o por los macrófagos (López-Barneo y Toledo-Aral, comunicación personal).

VI.8.- PERSPECTIVAS FUTURAS.-

En la actualidad se considera prioritario investigar nuevas terapias con capacidad para modificar el proceso neurodegenerativo subyacente en la EP. Entre ellas, la administración de GDNF ha cobrado un creciente protagonismo por su capacidad para inducir la restauración neurotrófica del sistema nigro-estriatal. Sin embargo el principal problema radica en determinar el método de administración más idóneo (Kirik *et al.*, 2004). Tanto la administración intraventricular, como más recientemente la infusión intraputamina, han sido ineficaces (véase apartado II.3.3). También se está investigando la posibilidad de inyectar vectores virales que expresen GDNF (terapia génica *in vivo*) o de trasplantar células modificadas genéticamente para que lo sinteticen (terapia génica *ex vivo*).

En este contexto, el trasplante de células del CC podría ser un procedimiento idóneo para administrar GDNF al estriado de una forma continuada y fisiológica, sin los inconvenientes relacionados con las distintas formas de terapia génica. Nuestro estudio piloto ha demostrado que estas células son capaces de ejercer efectos biológicos en pacientes con EP avanzada, aunque en la mayoría de ellos la respuesta clínica ha sido de escasa magnitud y duración. Es necesario, por tanto, definir con precisión las variables metodológicas más idóneas para el futuro desarrollo de esta terapia.

VI.8.1.- Huésped del trasplante.-

Al igual que en los estudios controlados sobre trasplante de tejido fetal, nuestro estudio confirma que los mejores candidatos al trasplante de agregados celulares del CC serían aquellos pacientes más jóvenes, con una enfermedad más leve y de más lenta evolución.

No cabe duda que, para evaluar todo el potencial de una terapia neuroprotectora en la EP, habría que aplicarla en fases iniciales de la enfermedad. De esta forma, se podría demostrar su capacidad para enlentecer la evolución del proceso neurodegenerativo con respecto a un grupo control, utilizando para ello marcadores objetivos, como podrían ser los estudios seriados mediante PET (Brooks, 2003). Sin

embargo, aunque este abordaje se considera plenamente válido para el estudio de un nuevo fármaco, las consideraciones éticas serían distintas en el caso de un procedimiento invasivo.

VI.8.2.- Tejido donante.-

En nuestro estudio se consideró que el donante idóneo para el trasplante de agregados celulares del CC era el propio paciente, de tal forma que se pudiera obviar la posibilidad de rechazo y la necesidad de tratamiento inmunosupresor. Sin embargo, el autotrasplante del CC no está exento de problemas:

- Por una parte, la cantidad de células disponible es limitada. Teniendo en cuenta que se ha documentado una relación “dosis-respuesta”, el número de células de un único CC podría ser insuficiente para ejercer un efecto trófico adecuado, especialmente en aquellos pacientes con una enfermedad de más rápida evolución.
- Algunos pacientes pueden presentar fibrosis del CC y/o una menor densidad de células glómicas funcionalmente activas. Aunque este hallazgo parece menos frecuente en los pacientes menores de 60 años, en la actualidad se desconoce su prevalencia real. Puesto que se trata de un factor limitante del trasplante, sería necesario desarrollar métodos incruentos para evaluar la integridad del CC como paso previo a la cirugía.
- Las células glómicas podrían verse afectadas por el proceso patológico de la EP. Si esto fuera así, difícilmente podría defenderse el autotrasplante. Sin embargo, en la actualidad no hay evidencias científicas que lo apoyen.

Se han planteado distintas estrategias con las que se podría obtener un mayor número de células glómicas funcionalmente activas para el trasplante:

- a) Extracción del CC de adultos jóvenes en muerte cerebral (donación de órganos). En ese caso existiría la posibilidad de rechazo inmunológico, por lo que sería necesario tratamiento inmunosupresor crónico.
- b) Obtención de células glómicas fetales, que podrían ser expandidas *in vitro* tras la introducción del oncogen tsTAg utilizando vectores virales (Hao *et al.*, 2002). En este caso se sumarían los problemas de disponibilidad y ético-legales

relacionados con la obtención de tejido fetal, los riesgos asociados a la manipulación genética, y la necesidad de inmunosupresión.

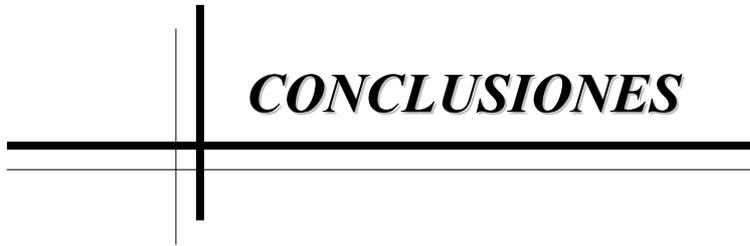
- c) Obtención de células madre del CC adulto y su expansión *in vitro* (López-Barneo, comunicación personal). Estas células podrían ser obtenidas del CC del propio paciente, manteniendo la técnica del autotrasplante.

VI.8.3.- Procedimientos técnicos.-

Por último, para el desarrollo futuro de esta terapia sería necesario definir las variables más idóneas relacionadas con los procedimientos técnicos:

- **Procesamiento celular:** determinar el grado de dispersión óptimo de las células trasplantadas, incluyendo la eventual utilidad del tratamiento enzimático en humanos.
- **Lugar de implantación:** definir el número y localización óptima de los implantes, teniendo en cuenta la cantidad de tejido disponible.
- **Técnica de implantación:** optimizar los procedimientos de localización e inyección con el fin de reducir la variabilidad, así como utilizar métodos de imagen de alta resolución para evaluar con exactitud el tamaño y localización de los implantes.

En definitiva, aunque las perspectivas del trasplante de agregados celulares del CC son prometedoras, en la actualidad no se han optimizado suficientemente las principales variables metodológicas como para plantear la realización de un ensayo clínico controlado (fase III). Por tanto, para el desarrollo futuro de esta terapia sería necesario previamente definir con precisión los candidatos más idóneos, establecer el origen y número óptimo de células glómicas, y perfeccionar los procedimientos técnicos relacionados con el procesamiento celular y la implantación.



CONCLUSIONES

-
- La EP es un problema de salud de importancia creciente. A pesar de disponer en la actualidad de tratamientos farmacológicos y quirúrgicos con eficacia sintomática, se considera prioritario investigar nuevas terapias potencialmente neuroprotectoras o neuroregenerativas. Los trasplantes de mesencéfalo fetal humano pueden restaurar cuantitativamente el déficit de dopamina estriatal, pero este efecto ha demostrado ser clínicamente insuficiente en presencia de una degeneración neuronal progresiva. Debido a ello, la atención se ha centrado en la actualidad en otros métodos con capacidad para ejercer acciones tróficas sobre el sistema nigro-estriatal, como es la administración de GDNF. Sin embargo, tras el fracaso de los sistemas de infusión directa, aún no se ha determinado la forma de administración más idónea. En este contexto, el autotrasplante de agregados celulares del CC podría ser un valioso tratamiento neuroregenerativo para la EP. Esta estructura contiene células glómicas derivadas de la cresta neural que, además de sintetizar dopamina, expresan altos niveles de GDNF. En modelos animales de EP (ratas hemiparkinsonianas y primates tratados con MPTP), este procedimiento ha demostrado de forma consistente su capacidad para inducir la restauración neurotrófica del sistema nigro-estriatal.
 - El objetivo de nuestro estudio ha sido evaluar, por primera vez en pacientes con EP, la seguridad, eficacia clínica y efectos neuroquímicos del autotrasplante de agregados celulares del CC.
 - Este estudio confirma que se trata de un procedimiento técnicamente viable en el ser humano. Su seguridad está condicionada principalmente por los riesgos de la cirugía estereotáctica craneal: se estima que la tasa de complicaciones potencialmente graves, al igual que en las intervenciones mediante ECP, podría alcanzar el 5%. Ningún paciente ha desarrollado disquinesias de nueva aparición en situación “off”, ni otras complicaciones relacionadas directamente con el trasplante a largo plazo.
 - La mayoría de los pacientes con EP avanzada intervenidos (10 de 12) ha experimentado algún grado de mejoría objetiva sobre las manifestaciones motoras de la EP en situación “off”, siendo máxima a los 6-12 meses del trasplante

(reducción media del 26% en la escala UPDRS III). Asimismo, han mejorado de forma paralela la capacidad funcional en “off” y las complicaciones de la enfermedad. La dosis de medicación se ha reducido una media del 10% al año del trasplante. Posteriormente ha existido una tendencia progresiva hacia el estado clínico basal, aunque a los 3 años aún mantenían cierto beneficio motor en “off” la mitad de los pacientes con mayor seguimiento.

- La relevancia clínica de estos cambios, en cuanto a magnitud y duración, ha sido escasa para la mayoría de los pacientes, considerando el contexto global de la EP avanzada. Únicamente una paciente ha mantenido una mejoría motora y funcional destacada durante los 3 años de seguimiento.
- Los principales factores predictores de una evolución clínica más favorable a medio plazo han sido la integridad histológica del CC y la menor edad de los pacientes. Además, otra parte importante de las diferencias podría estar relacionada con la variabilidad técnica durante el procesamiento celular y/o la implantación.
- Consideramos que los cambios medios en la variable principal de eficacia clínica (UPDRS III en “off” evaluada de forma cegada mediante vídeo) han sido debidos en su mayor parte a los efectos biológicos de las células trasplantadas. Esta hipótesis se sustenta fundamentalmente en el análisis de los factores pronósticos comentados. Asimismo, viene apoyada por la evolución de un paciente que fue implantado de forma asimétrica y que fue evaluado de forma “doble ciego”. Además, esta variable no está influida de forma relevante por el “sesgo del evaluador” ni por el “efecto placebo”. Por otro lado, es probable que la contribución del “efecto placebo” haya sido más importante sobre otras variables de nuestro estudio con mayor carga subjetiva, como las relacionadas con la calidad de vida.
- Globalmente, no se han objetivado cambios estadísticamente significativos en la captación estriatal de ^{18}F -dopa al año de la cirugía, aunque ha existido una marcada variabilidad entre pacientes y hemisferios. Estos efectos neuroquímicos podrían haber sido infraestimados, si tenemos en cuenta que el sub-grupo de pacientes

estudiados mediante PET (n = 7) obtuvo un menor beneficio clínico, probablemente por haber sido implantados de forma sub-óptima. Además, el PET postquirúrgico no coincidió con el momento de la máxima mejoría clínica. En cualquier caso, es de destacar la ausencia de un decremento progresivo en la captación putaminal, como sería esperable por la propia evolución natural de la enfermedad. Al contrario, se observó una tendencia no significativa hacia un incremento medio del 5%.

- Se ha documentado una estrecha asociación entre los cambios neuroquímicos en el putamen y los cambios clínicos en la variable principal, especialmente en aquellos hemisferios menos afectados basalmente por la enfermedad. Este hecho apoya fuertemente que los cambios motores observados en nuestro estudio están relacionados con los efectos biológicos del trasplante. Además, podría sugerir la existencia de un efecto neuroprotector sobre el sistema nigro-estriatal.
- En definitiva, nuestro estudio ha demostrado que el autotrasplante de agregados celulares del CC es un procedimiento viable y capaz de ejercer efectos biológicos en los pacientes con EP avanzada. Sin embargo la respuesta clínica ha sido, en la mayoría de ellos, de escasa magnitud y duración. Es necesario, por tanto, definir con precisión las variables metodológicas más idóneas para el futuro desarrollo de esta terapia: los pacientes candidatos; el origen y número óptimo de células glómicas; y los procedimientos técnicos relacionados con el procesamiento celular y la implantación.



BIBLIOGRAFÍA

Akerud P, Canals JM, Snyder EY, Arenas E. Neuroprotection through delivery of glial cell line-derived neurotrophic factor by neural stem cells in a mouse model of Parkinson's disease. *J Neurosci* 2001; 21: 8108-8118.

Alberca R. Diagnóstico y evaluación de la enfermedad de Parkinson. En: Alberca R, González-Maldonado R, Ochoa JJ, eds. Diagnóstico y tratamiento de la enfermedad de Parkinson. Madrid: Ergón, 1996; 5-61.

Alberca R, Ochoa JJ, Franco E. Síndrome parkinsoniano: causas y diagnóstico diferencial. En: Obeso JA, Tolosa E, Grandas F, eds. Tratado de la enfermedad de Parkinson (2ª ed). Madrid: DuPont Pharma, 2000; 55-70.

Allen GS, Burns RS, Tulipan NB, Parker RA. Adrenal medullary transplantation to the caudate nucleus in Parkinson's disease: initial clinical results in 18 patients. *Arch Neurol* 1989; 46: 487-491.

Álvarez-Buylla A, García-Verdugo JM. Neurogénesis in adult subventricular zone. *J Neurosci* 2002; 22: 629-634.

Ansari AA, Mayne A, Freed CR, Breeze RE, Schneck SA, O'Brien CF et al. Lack of detectable systemic humoral/cellular allogenic response in human and nonhuman primate recipients of embryonic mesencephalic allografts for the therapy of Parkinson's disease. *Transplant Proc* 1995; 27: 1401-1405.

Antman K, Lagakos S, Drazen J. Designing and funding clinical trials of novel therapies. *N Engl J Med* 2001; 344: 762-763.

Apuzzo ML, Neal JH, Waters CH, Appley AJ, Boyd SD, Couldwell WT et al. Utilization of unilateral and bilateral stereotactically placed adrenomedullary-striatal autografts in Parkinsonian humans: rationale, techniques, and observations. *Neurosurgery* 1990; 26: 746-757.

Arenas E. Stem cells in the treatment of Parkinson's disease. *Brain Res Bull* 2002; 57: 795-808.

Arjona V, Mínguez-Castellanos A, Montoro RJ, Ortega A, Escamilla F, Toledo-Aral JJ et al. Autotransplantation of human carotid body cell aggregates for treatment of Parkinson's disease. *Neurosurgery* 2003; 53: 321-330.

Backlund EO, Grandberg PO, Hamberger B, Kuntsson E, Martensson A, Goran S et al. Transplantation of adrenal medullary tissue to striatum in Parkinsonism: first clinical trials. *J Neurosurg* 1985; 62: 169-173.

Bakay RAE, Barrow DL, Fiandaca MS, Iuvone PM, Schiff A, Collins DC. Biochemical and behavioural correction of MPTP-like syndrome by fetal cell transplantation. *Ann NY Acad Sci* 1987; 495: 623-638.

Baker KA, Sadi D, Hong M, Mendez I. Simultaneous intraestriatal and intranigral dopaminergic grafts in the parkinsonian rat model: role of the intranigral graft. *J Comp Neurol* 2000; 426: 106-116.

Bankiewicz KS, Plunkett RJ, Kopin IJ, Jacobowitz DM, London WT, Olfeld E. Transient behavioural recovery in hemiparkinsonian primates after adrenal medullary allografts. *Prog Brain Res* 1988, 78: 543-550.

Bankiewicz KS, Plunkett RJ, Jacobowitz DM, Porrino L, di Porzio U, London WT et al. The effect of fetal mesencephalon implants on primate MPTP-induced parkinsonism: histochemical and behavioral studies. *J Neurosurg* 1990; 72: 231-244.

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.

Barberi T, Klivenyi P, Calingasan NY, Lee H, Kawamata H, Loonam K et al. Neural subtype specification of fertilization and nuclear transfer embryonic stem cells and application in parkinsonian mice. *Nat Biotechnol* 2003; 21:1200-1207.

Barinaga M. Unusual cells may help treat Parkinson's disease. *Science* 1998; 279: 1301.

Barker RA, Dunnett SB. Functional integration of neural grafts in Parkinson's disease. *Nat Neurosci* 1999; 2: 1047-1048.

Barraquer L, Martí JM, Gil D, Barraquer ML. Evolución histórica del conocimiento de la enfermedad de Parkinson. En: 15-22.

Batchelor PE, Liberatore GT, Wong JY, Porritt MJ, Frerichs F, Donnan GA et al. Activated macrophages and microglia induce dopaminergic sprouting in the injured striatum and express brain-derived neurotrophic factor and glial cell line-derived neurotrophic factor. *J Neurosci* 1999; 19:1708-1717.

Beal MF. Experimental models of Parkinson's disease. *Nat Rev Neurosci* 2001; 2: 325-332.

Bencsics C, Wachtel SR, Milstien S, Hatakeyama K, Becker JB, Kang UJ. Double transduction with GTP cyclohydrolase I and tyrosine hydroxylase is necessary for spontaneous synthesis of L-DOPA by primary fibroblasts. *J Neurosci* 1996;16: 4449-4456.

Benito-León J, Porta-Etessam J, Bermejo F. Epidemiología de la enfermedad de Parkinson. *Neurología* 1998; 13 (supl 1): 2-9.

Bhatia KP, Marsden CD. The behavioural and motor consequences of focal lesions of the basal ganglia in man. *Brain* 1994; 117: 859-876.

Bilang-Bleuel A, Revah F, Colin P, Locquet I, Robert JJ, Mallet J et al. Intrastratial injection of an adenoviral vector expressing glial-cell-line-derived neurotrophic factor prevents dopaminergic neuron degeneration and behavioral impairment in a rat model of Parkinson disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997; 94: 8818-8823.

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.

Bing GY, Notter MF, Hansen JT, Kellogg C, Kordower JH, Gash DM. Cografts of adrenal medulla with C6 glioma cells in rat with 6-hydroxydopamine-induced lesions. *Neuroscience* 1990; 34: 687-697.

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

Björklund A, Dunnett SB, Stenevi U, Lewis ME, Iversen SD. Reinnervation of the denervated striatum by substantia nigra transplants: functional consequences as revealed by pharmacological and sensorimotor testing. *Brain Res* 1980; 199: 307-333.

Björklund A, Stenevi U, Dunnett SB, Iversen SD. Functional reactivation of the deafferented neostriatum by nigral transplants. *Nature* 1981; 289: 497-499.

Björklund L, Spenger C, Strömberg I. Tirilazad mesylate increases dopaminergic neuronal survival in the oculo grafting model. *Exp Neurol* 1997; 148: 324-333.

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: 2344-2349.

Borlongan CV, Cameron DF, Saporta S, Sanberg PR. Intracerebral transplantation of testis-derived sertoli cells promotes functional recovery in female reats with 6-hidroxydopamine-induced hemiparkinsonism. *Exp Neurol* 1997; 148: 388-399.

Braak H, Braak E. Pathoanatomy of Parkinson's disease. *J Neurol* 2000; 247 (supl 2): II/3-II/10.

Braak H, Del Tredici K, Rüb U, de Vos RAI, Jansen Steur ENH, Braak E. Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. *Neurobiol Aging* 2003; 24: 197-211.

Braz CA, Borges V, Ferraz HB. Effect of riluzole on dyskinesia and duration of the on state in Parkinson disease patients: a double-blind, placebo-controlled pilot study. *Clin Neuropharmacol* 2004; 27: 25-29.

Brooks DJ. Advances in imaging Parkinson's disease. *Curr Opin Neurol* 1997; 10: 327-331.

Brooks DJ. Monitoring neuroprotection and restorative therapies in Parkinson's disease with PET. *J Neural Transm Suppl* 2000; 60: 127-137.

Brooks DJ. Movement disorders: functional imaging. En: Jankovic J, Tolosa E, eds. *Parkinson's disease and movement disorders* (4th ed.) Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2002; 610-631.

Brooks DJ. Imaging end points for monitoring neuroprotection in Parkinson's disease. *Ann Neurol* 2003; 53 (suppl 3): S110-S119.

Brundin P. GDNF treatment in Parkinson's disease: time for controlled clinical trials?. *Brain* 2002; 125: 2149-2151.

Brundin P, Strecker RE, Widner H, Clarke DJ, Nilsson OG, Åstedt B et al. Human fetal dopamine neurons grafted in a rat model of Parkinson's disease: immunological aspects, spontaneous and drug-induced behavior, and dopamine release. *Exp Brain Res* 1988; 70: 192-208.

Brundin P, Widner H, Nilsson OG, Strecker RE, Bjorklund A. Intracerebral xenografts of dopamine neurons: the role of immunosuppression and the blood-brain barrier. *Exp Brain Res* 1989; 75: 195-207.

Brundin P, Pogarell O, Hagell P, Piccini P, Widner H, Schrag A et al. Bilateral caudate and putamen grafts of embryonic mesencephalic tissue treated with lazardoids in Parkinson's disease. *Brain* 2000; 123: 1380-1390.

Cahill DW, Olanow CW. Autologous adrenal medulla to caudate nucleus transplantation in advanced Parkinson's disease: 18 months results. *Prog Brain Res* 1990; 82: 637-642.

Carvey PM, Ling ZD, Sortwell CE, Pitzer MR, McGuire SO, Storch A et al. A clonal line of mesencephalic progenitor cells converted to dopamine neurons by hematopoietic cytokines: a source of cells for transplantation in Parkinson's disease. *Exp Neurol* 2001; 171: 98-108.

Chauhan NB, Siegel GJ, Lee JM. Depletion of glial cell line-derived neurotrophic factor in substantia nigra neurons of Parkinson's disease brain. *J Chem Neuroanat* 2001; 21: 277-288.

Chen S, Xianwen C, Dehua X, Zhenguo L, Lingfei X, Smith SW et al. Behavioral correction of Parkinsonian rats following the transplantation of immortalized fibroblasts genetically modified with TH and GCH genes. *Parkinsonism Relat Disord* 2003; 9 (suppl 2): S91-S97.

Choi-Lundberg D, Rosenthal A. Autotransplantation for Parkinson's disease goes a step further. *Neuron* 1999; 22: 635-636.

Collier TJ, Sortwell CS, Elsworth JD, Taylor JR, Roth RH, Sladek JR et al. Embryonic ventral mesencephalic grafts to the substantia nigra of MPTP-treated monkeys: feasibility relevant to multiple target grafting as a therapy for Parkinson's disease. *J Comp Neurol* 2002; 442: 320-330.

Cortez N, Trejo F, Vergara P, Segovia J. Primary astrocytes retrovirally transduced with a tyrosine hydroxylase transgene driven by a glial-specific promoter elicit behavioral recovery in experimental parkinsonism. *J Neurosci Res* 2000; 59: 39-46.

Costantini LC, Isacson O. Neuroimmunophilin ligand enhances neurite outgrowth and effect of fetal dopamine transplants. *Neuroscience* 2000; 100: 515-520.

Czyzyk-Krzeska MF, Bayliss DA, Lawson EE, Millhorn DE. Regulation of tyrosine hydroxylase gene expression in the rat carotid body by hypoxia. *J Neurochem* 1992; 58: 1538-1556.

Date I, Imaoka T, Miyoshi 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 pretransected peripheral nerve. *J Neurosurg* 1996; 84: 685-689.

Date I, Shingo T, Yoshida H, Fujiwara K, Kobayashi K, Ohmoto T. Grafting of encapsulated dopamine-secreting cells in Parkinson's disease: long-term primate study. *Cell Transplant* 2000; 9:705-709.

DBS Study Group. Deep-Brain Stimulation of the subthalamic nucleus or the pars interna of the globus pallidus in Parkinson's disease. *N Engl J Med* 2001; 345: 956-963.

Deacon T, Schumacher J, Dinsmore J, Thomas C, Palmer P, Kott S et al. Histological evidence of fetal pig neural cell survival after transplantation into a patient with Parkinson's disease. *Nat Med* 1997; 3: 350-353.

Deacon T, Dinsmore J, Costantini LC, Ratliff J, Isacson O. Blastula-derived stem cells can differentiate into dopaminergic and serotonergic neurons after transplantation. *Exp Neurol* 1998; 149: 28-41.

Defer GL, Geny C, Ricolfi F, Fenelon G, Monfort JC, Remy P et al. Long-term outcome of unilaterally transplanted parkinsonian patients: I: clinical approach. *Brain* 1996; 119: 41-50.

Defer GL, Widner H, Marié RM, Rémy P; Levivier M et al. Core assessment program for surgical interventional therapies in Parkinson's Disease (CAPSIT-PD). *Mov Disord* 1999, 14: 572-584.

DeLong MR. Primate models of movement disorders of basal ganglia origin. *Trends Neurosci* 1990; 13: 281-285.

De Rijk MC, Tzourio C, Breteler MM, Dartigues JF, Amaducci L, Lopez-Pousa S et al. Prevalence of parkinsonism and Parkinson's disease in Europe: The Europarkinson Collaborative Study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1997; 62: 10-15.

Deuschl G, Krack P, Volkmann J (eds.) Deep brain stimulation for movement disorders. *Mov Disord* 2002; 17 (suppl 3):S1-S211.

Dunnett SB, Björklund A, Stenevi U, Iversen SD. Behavioural recovery following transplantation of substantia nigra in rats subjected to 6-OHDA lesions of the nigrostriatal pathway. *Brain Res* 1981; 215: 147-161.

Dunnett SB, Hernandez TD, Summerfield A, Jones GH, Arbuthnott G. Graft-derived recovery from 6-OHDA lesions: specificity of ventral mesencephalic graft tissues. *Exp Brain Res* 1988; 71: 411-424.

Dunnett SB, Björklund A, Lindvall O. Cell therapy in Parkinson's disease: stop or go?. *Nature Rev Neurosci* 2001; 2: 365-369.

During MJ, Naegele JR, O'Malley KL. Long-term behavioral recovery in parkinsonian rats by an HSV vector expressing tyrosine hydroxylase. *Science* 1994; 266: 1399-1403.

During MJ, Kaplitt MG, Stern MB, Eidelberg D. Subthalamic GAD gene transfer in Parkinson disease patients who are candidates for deep brain stimulation. *Hum Gene Ther* 2001; 12: 1589-1591.

Elbaz A, Bower JH, Peterson BJ, Maraganore DM, McDonnell SK, Ahlskog JE et al. Survival study of Parkinson disease in Olmsted County, Minnesota. *Arch Neurol* 2003; 60: 91-96.

Emgård M, Karlsson J, Hansson O, Brundin P. Patterns of cell death and dopaminergic neurons survival in intrastriatal nigral grafts. *Exp Neurol* 1999; 160: 279-288.

Erickson JT, Brosewitz TA, Katz DM. Brain-derived neurotrophic factor and glial cell line-derived neurotrophic factor are required simultaneously for survival of dopaminergic primary sensory neurons in vivo. *J Neurosci* 2001; 21: 581-589.

Escamilla F. Utilidad clínica de la estimulación cerebral profunda en la enfermedad de Parkinson avanzada (Tesis Doctoral). Universidad de Granada, 2003.

Escamilla F, Mínguez A, Maestre JF, Martín JM, Arjona V, García T. Palidotomía unilateral y estimulación palidal bilateral en la enfermedad de Parkinson. *Neurología* 2000; 15 (5): 244.

Escamilla F, Mínguez A, Katati MJ, Martín-Linares JM, Meersmans M, Ortega A et al. Utilidad clínica de la estimulación cerebral profunda en la enfermedad de Parkinson avanzada. *Neurología* 2004; 19: 719-727.

Espejo E, Montoro RJ, Armengol JA, López-Barneo J. Cellular and functional recovery of parkinsonian rats after intrastriatal transplantation of carotid body cell aggregates. *Neuron* 1998; 20: 197-206.

Espejo EF, Gonzalez-Albo MC, Moraes JP, El Banoua F, Flores JA, Caraballo I. Functional regeneration in a rat Parkinson's model after intrastriatal grafts of glial cell line-derived neurotrophic factor and transforming growth factor β_1 -expressing extra-adrenal chromaffin cells of the Zuckerkandl's organ. *J Neurosci* 2001; 21: 9888-9895.

Fahn S, Elton R and members of UPDRS Development Committee. Unified Parkinson's disease rating scale. En: Fahn S, Marsden C, Calne D, Goldstein M, eds. *Recent developments in Parkinson's disease* (vol. 2). Florham Park, NJ: MacMillan Healthcare; 1987; 153-163.

Fearnley JM, Lees AJ. Ageing and Parkinson's disease: substantia nigra regional selectivity. *Brain* 1991; 114: 2283-2301.

Fidone SJ, González C, Yoshizaki K. Effects of hypoxia on catecholamine synthesis in rabbit carotid body in vitro. *J Physiol* 1982; 333: 81-91.

Folkerth RD, Durso R. Survival and proliferation of nonneural tissues, with obstruction of cerebral ventricles, in a parkinsonian patient treated with fetal allografts. *Neurology* 1996; 46: 1219-1225.

Fordyce WE, Tenney SM. Role of the carotid bodies in ventilatory acclimation to chronic hypoxia by the awake cat. *Respir Physiol* 1984; 58: 207-221.

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

Freed WJ, Morihisa J, Spoor E, Hoffer B, Olson L, Seiger Å. Transplanted adrenal chromaffin cells in rat brain reduce lesion-induced rotational behaviour. *Nature* 1981; 292: 351-352.

Freed CR, Breeze RE, Rosenberg NL, Schneck SA, Wells TH, Barrett JN et al. Transplantation of human fetal dopamine cells for Parkinson's disease: results at 1 year. *Arch Neurol* 1990; 47: 505-512.

Freed CR, Breeze RE, Rosenberg NL, Schneck SA, Kriek E, Qi JX 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.

Freed CR, Greene PE, Breeze RE, Tsai WY, DuMouchel W, Kao R et al. Transplantation of embryonic dopamine neurons for severe Parkinson's disease. *N Engl J Med* 2001; 344: 710-719.

Freed CR, Leehey MA, Zawada M, Bjugstad K, Thomson L, Breeze RE. Do patients with Parkinson's disease benefit from embryonic dopamine cell transplantation? *J Neurol* 2003; 250 (suppl 3): III/44-III/46.

Freeman TB, Wojak J, Brandeis L, Michel J, Pearson J, Flamm E. Cross-species intracerebral grafting of embryonic swine dopaminergic neurons. *Prog Brain* 1988; 78: 473-477.

Freeman TB, Olanow CW, Hauser RA, Nauert GM, Smith DA, Borlongan CV et al. Bilateral fetal nigral transplantation into the postcommissural putamen in Parkinson's disease. *Ann Neurol* 1995; 38: 379-388.

Freeman TB, Vawter DE, Leaverton PE, Godbold JH, Hauser RA, Goetz CG et al. Use of placebo surgery in controlled trials of a cellular-based therapy for Parkinson's disease. *N Engl J Med* 1999; 341: 988-992. Correspondencia en: *N Engl J Med* 2000; 342: 353-355.

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

Galpern WR, Burns LH, Deacon TW, Dinsmore J, Isacson O. Xenotransplantation of porcine embryonic ventral mesencephalon in a rat model of Parkinson's disease: functional recovery and graft morphology. *Exp Neurol* 1996; 140: 1-13.

García T, Mínguez A, Obeso JA, editores. Tratamiento quirúrgico de los trastornos del movimiento. *Neurología* 2000; 15 (supl 5).

García de Yébenes, J. Genética de la enfermedad de Parkinson. *Neurología* 2001; 16: 1-6.

Gash DM, Zhang Z, Ovadia A, Cass WA, Yi A, Simmerman L et al. Functional recovery in parkinsonian monkeys treated with GDNF. *Nature* 1996; 380: 252-255.

Gasser T. Genetics of parkinsonism. En: Jankovic J, Tolosa E, eds. Parkinson's disease and movement disorders (4th ed.) Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2002; 566-575.

Gelb DJ, Oliver E, Gilman S. Diagnostic criteria for Parkinson disease. Arch Neurol 1999; 56: 33-39.

Gibb WRG, Lees AJ. The relevance of the Lewy body to the pathogenesis of idiopathic Parkinson's disease. J Neurol Neurosurg Psychiatry 1988; 51: 745-752.

Gildenberg PL. The history of surgery for movement disorders. Neurosurg Clin N Am 1998; 9: 283-293.

Gill SS, Patel NK, Hotton GR, O'Sullivan K, McCarter R, Bunnage M et al. Direct brain infusion of glial cell line-derived neurotrophic factor in Parkinson disease. Nat Med 2003; 9: 589-595.

Goetz CG, Olanow CW, Koller WC, Penn RD, Cahill D, Morantz R et al. Multicenter study of autologous adrenal medullary transplantation to the corpus striatum in patients with advanced Parkinson's disease. N Engl J Med 1989; 320: 337-341.

Goetz CG, Tanner CM, Penn RD, Stebbins GT 3rd, Gilley DW, Shannon KM et al. Adrenal medullary transplants to the striatum of patients with advanced Parkinson's disease: 1-year motor and psychomotor data. Neurology 1990; 40: 273-276.

Goetz CG Stebbins, Klawans HL, Koller WC, Grossman RG, Bakay RAE et al. United Parkinson Foundation Neurotransplantation Registry on adrenal medullary transplants: presurgical, and 1- and 2-year follow-up. Neurology 1991; 41: 1719-1722.

Goetz CG, Koller WC, Poewe W, Rascol O, Sampaio C and the Task Force commissioned by The Movement Disorder Society. Management of Parkinson's disease: an evidence-based review. Mov Disord 2002; 17 (supl. 4).

Golbe LI. Young-onset Parkinson's disease: a clinical review. Neurology 1991; 41: 168-173.

Gómez-Esteban JC, Boyero S, Fernández C, Sagasta T, Pérez T, Velasco F et al. Fallo barorreflejo tras intervención de un quimodectoma. Neurología 2004; 19: 453-456.

González C, Rocher A, Zapata P. Quimiorreceptores arteriales: mecanismos celulares y moleculares de las funciones adaptativa y homeostática del cuerpo carotídeo. Rev Neurol 2003; 36: 239-254.

Gordon PH, Yu Q, Qualls C, Winfield H, Dillon S, Greene PE et al. Reaction time and movement time after embryonic cell implantation in Parkinson disease. Arch Neurol 2004; 61: 858-861.

Grondin R, Zhang Z, Yi A, Cass WA, Maswood N, Andersen AH et al. Chronic, controlled GDNF infusion promotes structural and functional recovery in advanced parkinsonian monkeys. *Brain* 2002; 125: 2191-2201.

Guttman M, Burns RS, Martin WRW, Peppard RF, Adam MJ, Ruth TJ et al. PET studies of Parkinsonian patients treated with autologous adrenal implants. *Can J Neurol Sci* 1989; 16: 305-309.

Hagell P, Piccini P, Björlund A, Brundin P, Rehnström S, Widner H et al. Dyskinesias following neural transplantation in Parkinson's disease. *Nat Neurosci* 2002; 5: 627-628.

Hallett M, Litvan I and the Task Force on Surgery for Parkinson's Disease. Evaluation of surgery for Parkinson's disease: a report of the Therapeutics and Technology Assessment Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology* 1999; 53: 1910-1921.

Hansen JT; Kordower JH, Fiandaca MS, Klao SS, Nottter MFD, Gash DM. Adrenal medullary autografts into the basal ganglia of Cebus monkeys: grafts viability and fine structure. *Exp Neurol* 1988; 102: 65-75.

Hao G, Yao Y, Wang J, Zhang L, Viroonchatapan N, Wang ZZ. Intra-striatal grafting of glomus cells ameliorates behavioural defects of Parkinsonian rats. *Physiol Behav* 2002; 77: 519-525.

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

Hebb AO, Hebb K, Ramachandran AC, Mendez I. Glial cell line-derived neurotrophic factor-supplemented hibernation of fetal ventral mesencephalic neurons for transplantation in Parkinson disease: long-term storage. *J Neurosurg* 2003; 98: 1078-1083.

Herrera-Marchitz M, Stromberg I, Olsson D, Ungstedt U, Olson L. Adrenal medullary implants into the dopamine denervated rat striatum: acute behaviour as a function of graft amount and location and its modulation by neuroleptics. *Brain Res* 1984; 297: 53-61.

Hida 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; 35:101-112.

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

Hoehn MM, Yahr MD. Parkinsonism: onset, progression, and mortality. *Neurology* 1967; 17: 427-442.

Hoenicka J, Vidal L, Morales B, Ampuero I, Jiménez-Jiménez FJ, Berciano J et al. Molecular findings in familiar Parkinson disease in Spain. *Arch Neurol* 2002; 59: 966-970.

- Hoffer BJ, Leenders KL, Young D, Gerhardt G, Zerbe GO, Bygdeman M et al. Eighteen-month course of two patients with grafts of fetal dopamine neurons for Parkinson's disease. *Exp Neurol* 1992; 118: 243-252.
- Hoffer BJ, Hoffman A, Bowenkamp K, Huettl P, Hudson J, Martin D et al. Glial cell line-derived neurotrophic factor reverses toxin-induced injury to midbrain dopaminergic neurons in vivo. *Neurosci Lett* 1994; 182: 107-111.
- Honda Y. Respiratory and circulatory activities in carotid body resected humans. *J Appl Physiol* 1992; 73: 1-8.
- Hornykiewicz O. Levodopa in the 1960s: starting point Vienna. En: Poewe W y Lees AJ, eds. *Twenty years of Madopar: new avenues*. Basilea: Hoffmann-La Roche, 1994; 11-27.
- Hoshimaru M, Ray J, Sah DW, Gage FH. Differentiation of the immortalized adult neuronal progenitor cell line HC2S2 into neurons by regulatable suppression of the v-myc oncogene. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996; 93: 1518-1523.
- Houeto JL, Mesnage V, Welter ML, Mallet L, Agid Y, Bejjani BP. Subthalamic DBS replaces levodopa in Parkinson's disease. *Neurology* 2003; 60: 154-155.
- Hovarth M, Pasztor E, Palkovits M, Solyom A, Tarczy M, Lekka N et al. Autotransplantation of superior cervical ganglion to the caudate nucleus in three patients with Parkinson's disease (preliminary report). *Neurosurg Rev* 1990; 13: 119-122.
- Hughes AJ, Daniel SE, Blankson S, Lees AJ. A clinicopathologic study of 100 cases of Parkinson's disease. *Arch Neurol* 1993; 50: 140-148.
- Hurtig H, Joyce J, Sladek JR Jr, Trojanowski JQ. Postmortem analysis of adrenal medulla to caudate autograft in a patient with Parkinson's disease. *Ann Neurol* 1989; 25: 607-614.
- Isacson O, Deacon TW, Pakzaban P, Galpern WR, Dinsmore J, Burns LH. Transplanted xenogeneic neural cells in neurodegenerative disease models exhibit remarkable axonal target specificity and distinct growth patterns of glial and axonal fibres. *Nat Med* 1995; 11: 1189-1194.
- Isacson O, Björklund L, Sanchez-Pernaute R. Parkinson's disease: interpretations of transplantation study are erroneous. *Nature Neurosci* 2001; 4: 553-554.
- 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: 112-115.

Jankovic J, Hunter C. A double-blind, placebo-controlled and longitudinal study of riluzole in early Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord* 2002; 8: 271-276.

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

Jiang Y, Jahagirdar BN, Reinhardt RL, Schwartz RE, Keene CD, Ortiz-Gonzalez XR et al. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. *Nature* 2002; 418: 41-9.

Jiao SS, Ding YJ, Zhang WC, Cao JK, Zhang GF, Zhang ZM et al. Adrenal medullary autografts in patients with Parkinson's disease. *N Engl J Med* 1989; 321: 324-325.

Kawasaki H, Suemori H, Mizuseki K, Watanabe K, Urano F, Ichinose H et al. Generation of dopaminergic neurons and pigmented epithelia from primate ES cells by stromal cell-derived inducing activity. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99: 1580-1585.

Kelly P, Ahlskog E, van Heerden J, Carmichael SW, Studdard SL, Bell GN. Adrenal medullary autograft transplantation into the striatum of patients with Parkinson's disease. *Mayo Clin Proc* 1989; 64: 282-290.

Kim JH, Auerbach JM, Rodriguez-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: 50-56.

Kirik D, Rosenblad C, Bjorklund A, Mandel RJ. Long-term rAAV-mediated gene transfer of GDNF in the rat Parkinson's model: intrastriatal but not intranigral transduction promotes functional regeneration in the lesioned nigrostriatal system. *J Neurosci* 2000; 20: 4686-4700.

Kirik D, Georgievska B, Bjorklund A. Localized striatal delivery of GDNF as a treatment for Parkinson disease. *Nat Neurosci* 2004; 7: 105-110.

Kish SJ, Shannak K, Hornykiewicz O. Uneven pattern of dopamine loss in the striatum of patients with idiopathic Parkinson's disease: pathophysiologic and clinical implications. *N Engl J Med* 1988; 318: 876-880.

Kopyov OV, Jacques DS, Lieberman A, Duma CM, Rogers RL. Outcome following intra-striatal fetal mesencephalic grafts for Parkinson's patients is directly related to the volume of grafted tissue. *Exp Neurol* 1997; 146: 536-545.

Kordower JH, Fiandaca MS, Natter MFD, Hansen JT, Gash DM. NGF-like trophic support from peripheral nerve for grafted rhesus adrenal chromaffin cells. *J Neurosurg* 1990; 73: 418-428.

Kordower JH, Cochran E, Penn RD, Goetz CG. 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: 405-412.

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: 1118-1124.

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.

Kordower JH, Freeman TB, Chen EY, Mufson EJ, Sanberg PR, Hauser RA. Fetal nigral grafts survival and mediate clinical benefit in a patient with Parkinson's disease. *Mov Disord* 1998; 13: 383-393.

Kordower JH, Palfi SP, Chen EY, Ma SY, Sendera T, Cochran EJ et al. Clinicopathological findings following intraventricular glial-derived neurotrophic factor treatment in Parkinson's disease. *Ann Neurol* 1999; 46: 419-424.

Kordower JH, Emborg ME, Bloch J, Ma SY, Chu Y, Leventhal L et al. Neurodegeneration prevented by lentiviral vector delivery of GDNF in primate models of Parkinson's disease. *Science* 2000; 290: 767-773.

Krack P, Benazzouz A, Pollack P, Limousin P, Piallat B, Hoffmann D et al. Treatment of tremor in Parkinson's disease by subthalamic nucleus stimulation. *Mov Disord* 1998; 13: 907-914.

Krack P, Batir A, Van Blercom N, Chabardes S, Fraix V, Ardouin C, et al. Five-year follow-up of bilateral stimulation of the subthalamic nucleus in advanced Parkinson's disease. *N Engl J Med* 2003; 349: 1925-1934.

Kruger R, Menezes AM, Kuhn W. Increased susceptibility to sporadic Parkinson's disease by a certain combined alpha-synuclein-apolipoprotein E genotype. *Ann Neurol* 1999; 45: 611-617.

Lang AE. Clinical rating scales and videotape analysis. En: Koller WC, Paulson G, editores. *Therapy of Parkinson's disease* (2nd ed.). New York: Marcel Dekker, Inc; 1995: 21-46.

Lang AE. Subthalamic stimulation for Parkinson's disease: living better electrically?. *N Engl J Med* 2003; 349: 1888-1891.

Lang AE, Lozano AM. Parkinson's disease: first of two parts. *N Engl J Med* 1998a; 339: 1044-1053.

Lang AE, Lozano AM. Parkinson's disease: second of two parts. *N Engl J Med* 1998b; 339: 1130-1143.

Lang AE, Kleiner-Fisman G, Saint-Cyr JA, Miyasaki J, Lozano A. Subthalamic DBS replaces levodopa in Parkinson's disease. *Neurology* 2003; 60: 154-155.

Langston JW, Widner H, Goetz CG, Brooks D, Fahn S, Freeman T et al. Core assessment program for intracerebral transplantations (CAPIT). *Mov Disord* 1992; 7: 2-13.

Lee CS, Sammi A, Sossi V, Ruth TJ, Schulzer M, Holden JE et al. In vivo positron emission tomographic evidence for compensatory changes in presynaptic dopaminergic nerve terminals in Parkinson's disease. *Ann Neurol* 2000; 47: 493-503.

Lee CC, Lin SZ, Wang Y, Lin JJ, Liu JY, Chen GJ et al. First human ventral mesencephalon and striatum cografing in a Parkinson patient. *Acta Neurochir Suppl* 2003; 87: 159-162.

Lees AJ. Drugs for Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2002; 73: 607-610.

Lees AJ, Grosset DG (eds.). Dopamine transporter imaging. *Mov Disord* 2003; 18 (supl 7): S1-S80.

Leff SE, Rendahl KG, Spratt SK, Kang UJ, Mandel RJ. In vivo L-DOPA production by genetically modified primary rat fibroblast or 9L gliosarcoma cell grafts via coexpression of GTPcyclohydrolase I with tyrosine hydroxylase. *Exp Neurol* 1998; 151: 249-264.

Leone P, McPhee WJ, Janson CG, Davidson BL, Freese A, During MJ. Multi-site partitioned delivery of human tyrosine hydroxylase gene with phenotypic recovery in Parkinsonian rats. *Neuroreport* 2000; 11: 1145-1151.

Leroy A, Michelet D, Mahieux F, Geny C, Defer G, Monfort JC et al. Neuropsychological testing of 5 patients with Parkinson's disease before and after neuron graft. *Rev Neurol (Paris)* 1996; 152: 158-164.

Li Y, Chen J, Wang L, Zhang L, Lu M, Chopp M. Intracerebral transplantation of bone marrow stromal cells in a 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine mouse model of Parkinson's disease. *Neurosci Lett* 2001; 316: 67-70.

Lie DC, Dzievczapolski G, Willhoite AR, Kaspar BK, Shults CW, Gage FH. The adult substantia nigra contains progenitor cells with neurogenic potential. *J Neurosci* 2002; 22: 6639-6649.

Lieberman A, Ransohoff J, Berczeller P, Brous P, Eng K, Goldstein M et al. Adrenal medullary transplants as a treatment for advanced Parkinson's disease. *Acta Neurol Scand* 1989; 80 (supl. 126): 189-196.

- Lim DA, Flames N, Collado L, Herrera DG. Investigating the use of primary adult subventricular zone neural precursor cells for neuronal replacement therapies. *Brain Res Bull* 2002; 57: 759-764.
- 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: 1130-1132.
- Linazasoro G, Van Blercom N, Ramos E. ¿Nuevos vientos en el tratamiento quirúrgico de la enfermedad de Parkinson?. *Neurología* 2002; 17: 1-6.
- Lindvall O. Cerebral implantation in movement disorders: state of the art. *Mov Disord* 1999; 14: 201-205.
- Lindvall O, Backlund EO, Farde L, Sedvall G, Freedman R, Hoffer BJ et al. Transplantation for Parkinson's disease: two cases of adrenal medullary grafts to the putamen. *Ann Neurol* 1987; 22: 457-468.
- Lindvall O, Rehncrona S, Brundin P, Gustavii B, Åstedt B, Widner H et al. Human fetal dopamine neurons grafted into striatum in two patients with severe Parkinson's disease: a detailed account of methodology and a 6-month follow-up. *Arch Neurol* 1989; 46: 615-631.
- 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: 574-577.
- Lindvall O, Widner H, Rehncrona S, Brundin P, Odin P, Gustavii B et al. Transplantation of fetal dopamine neurons in Parkinson's disease: one-year clinical and neurophysiological observations in two patients with putaminal implants. *Ann Neurol* 1992; 31: 155-165.
- Lindvall O, Sawle G, Widner H, Rothwell JC, Björklund A, Brundin P et al. Evidence for long-term survival and function of dopaminergic grafts in progressive Parkinson's disease. *Ann Neurol* 1994; 35: 172-180.
- Liu HW, Kuang YJ, Wu JC, Ma KH, Wang SD, Liu JC. Intra-striatal transplantation of Sertoli cells may improve amphetamine-induced rotation and tyrosine hydroxylase immunoreactivity of the striatum in hemiparkinsonian rats. *Brain Res* 1999; 838: 22-233.
- López-Barneo J, López-López JR, Ureña J, González C. Chemotransduction in the carotid body: K⁺ current modulated by PO₂ in type I chemoreceptor cells. *Science* 1988; 241: 580-582.
- López-Barneo J, Pardal R, Ortega-Sáenz P. Cellular mechanism of oxygen sensing. *Annu Rev Physiol* 2001; 63: 259-287.

López-Lozano JJ, Brera B, Abascal J, and Bravo G. Preparation of adrenal medullary tissue for transplantation in Parkinson's disease: a new procedure. *J Neurosurg* 1989; 71: 452-454.

López-Lozano JJ, Bravo G, Abascal J and CPH Neural Transplantation Group. A long-term study of Parkinson's patients subjected to autoimplants of perfused adrenal medulla into the caudate nucleus. *Transplant Proc* 1990; 22: 2243-2246.

López-Lozano JJ, Bravo G, Abascal J and CPH Neural Transplantation Group. Grafting of perfused adrenal medullary tissue into the caudate nucleus of patients with Parkinson's disease. *J Neurosurg* 1991; 75: 234-243.

López-Lozano JJ, Bravo G, Brera B, Dargallo J, Salmean J, Uria J and CPH Neural Transplantation Group. Long-term improvement in patients with severe Parkinson's disease after implantation of fetal ventral mesencephalic tissue in a cavity of the caudate nucleus: 5-year follow-up in 10 patients. *J Neurosurg* 1997; 86: 931-942.

López-Lozano JJ, Bravo G, Abascal J, Brera B, Millan I and CPH Neural Transplantation Group. Clinical outcome of cotransplantation of peripheral nerve and adrenal medulla in patients with Parkinson's disease. *J Neurosurg* 1999; 90: 875-882.

López-Lozano JJ, Mata M, Bravo G y Grupo de Trasplantes Neurales de la Clínica Puerta de Hierro. Trasplantes neurales en la enfermedad de Parkinson: experiencia de la Clínica Puerta de Hierro y estado actual. *Neurología* 2000; 15 (supl 5): 62-79.

Luquin MR. Implantes de células del cuerpo carotideo como alternativa de tratamiento para la enfermedad de Parkinson. *Neurología* 1999; 373-376.

Luquin MR, Montoro RJ, Guillen J, Saldise L, Insausti R, Del Río J et al. Recovery of chronic parkinsonian monkeys by autotransplants of carotid body cell aggregates into putamen. *Neuron* 1999; 22: 743-750.

Luquin R, San Sebastián W, Saldise L, Guillén J, Belzunegui S. Autotransplants of carotid body cell aggregates increase the number of striatal dopaminergic neurons in MPTP-monkeys. *Neurology* 2004; 62 (suppl 5): A 9-10.

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: 425-429.

Ma Y, Feigin A, Dhawan V, Fukuda M, Shi Q, Greene P et al. Dyskinesia after fetal cell transplantation for parkinsonism: a PET study. *Ann Neurol* 2002; 52: 628-634.

Macklin R. The ethical problems with sham surgery in clinical research. *N Engl J Med* 1999; 341: 992-996. Correspondencia en: *N Engl J Med* 2000; 342: 353-355.

Madrazo I, Drucker-Colin R, Diaz V, Martinez-Mata J, Torres C, Becerril J. Open microsurgical autograft of the adrenal medulla to the right caudate nucleus in two patients with intractable Parkinson's disease. *N Engl J Med* 1987; 316: 831-834.

Madrazo I, Franco-Bourland R, Ostrosky-Solis F, Aguilera M, Cuevas C, Alvarez F et al. Neural trasplantation (auto-adrenal, fetal nigral and fetal adrenal) in Parkinson's disease: the Mexican experience. *Prog Brain Res* 1990a; 82: 593-602.

Madrazo I, Franco-Bourland R, Ostrosky-Solis F, Aguilera M, Cuevas C, Zamorano C et al. Fetal homotransplants (ventral mesencephalon and adrenal tissue) to the striatum of Parkinsonian subjects. *Arch Neurol* 1990b; 47: 1281-1285.

Mahoney FI, Barthel DW. Functional evaluation: the Barthel index. *Md State Med J* 1965; 14: 61-65.

Mandel RJ, Rendahl KG, Spratt SK, Snyder RO, Cohen LK, Leff SE. Characterization of intrastriatal recombinant adeno-associated virus-mediated gene transfer of human tyrosine hydroxylase and human GTP-cyclohydrolase I in a rat model of Parkinson's disease. *J Neurosci* 1998; 18: 4271-4284.

Manyam BV. Paralysis agitans and levodopa in "Ayurveda": ancient Indian medical treatise. *Mov Disord* 1990; 5: 47-48.

Marek K, Jennings D, Seibyl J. Dopamine agonists and Parkinson's disease progression: what can we learn from neuroimaging studies. *Ann Neurol* 2003; 53 (suppl 3): S160-S169.

Mark MH, Duvoisin RC. The history of the medical therapy of Parkinson's disease. En: Koller WC, Paulson G, eds. *Therapy of Parkinson's disease* (2nd ed.). Nueva York: Marcel Dekker Inc., 1995; 1-20.

Marras C, Rochon P, Lang AE. Predicting motor decline and disability in Parkinson Disease: a systematic review. *Arch Neurol* 2002; 59: 1724-1728.

Marsden CD, Obeso JA. The functions of the basal ganglia and the paradox of stereotactic surgery in Parkinson's disease. *Brain* 1994; 117: 877-897.

Martínez-Martín P, Koller WC, editores. *Quality of life in Parkinson's disease*. Barcelona: Masson, 1999.

Martínez-Martín P, Gil-Nagel A, Morlán-Gracia L, Balseiro-Gómez J, Martínez-Sarriés J, Bermejo F et al. Unified Parkinson's disease rating scale: characteristics and structure. *Mov Disord* 1994; 9: 76-83.

Martínez-Martín P, Frades-Payo B, and The Grupo Centro for Study of Movement Disorders. Quality of life in Parkinson's disease: validation study of the PDQ-39 Spanish version. *J Neurol* 1998; 245 (suppl 1): S34-S38.

Martínez-Martín P, Vallderiola F, Tolosa E, Pilleri M, Molinuevo JL, Rumiá J et al. Bilateral subthalamic nucleus stimulation and quality of life in advanced Parkinson's disease. *Mov Disord* 2002; 17 (2): 372-377.

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; 24:1726-1733.

Mayer E, Fawcett JW, Dunnet SB. Basic fibroblast growth factor promotes the survival of embryonic ventral mesencephalic dopaminergic neurons. II: Effects on nigral transplants in vivo. *Neuroscience* 1993; 56: 389-398.

McGregor KH, Gil J, Lahiri S. A morphometric study of the carotid body in chronically hypoxic rats. *J Appl Physiol* 1984; 57: 1430-1438.

McRae C, Cherin E, Yamazaki TG, Diem G, Vo AH, Russell D et al. Effects of perceived treatment on quality of life and medical outcomes in a double-blind placebo surgery trial. *Arch Gen Psychiatry* 2004; 61: 412-420.

Mendez I, Sadi D, Hong M. Reconstruction of the nigrostriatal pathway by simultaneous intrastriatal and intranigral dopaminergic transplants. *J Neurosci* 1996; 16: 7216-7227.

Mendez I, Dagher A, Hong M, Hebb A, Gaudet P, Law A et al. Enhancement of survival of stored dopaminergic cells and promotion of graft survival by exposure of human fetal nigral tissue to glial cell line-derived neurotrophic factor in patients with Parkinson's disease: report of two cases and technical considerations. *J Neurosurg* 2000; 92: 863-869.

Mendez I, Dagher A, Hong M, Gaudet P, Weerasinghe S, McAlister V et al. Simultaneous intrastriatal and intranigral fetal dopaminergic grafts in patients with Parkinson disease: a pilot study. Report of three cases. *J Neurosurg* 2002; 96: 589-596.

Mínguez A. Tratamiento quirúrgico del temblor. *Neurología* 2000; 15 (supl 5): 3-16.

Mínguez A. Avances en el diagnóstico y tratamiento de la enfermedad de Parkinson. En: Peinado MA, Martínez M y Pedrosa JA, editores. *Envejecimiento cerebral y enfermedades neurodegenerativas asociadas*. Jaén: UNED, 2001; 299-324.

Mínguez A, Linazasoro G, editores. Tratamiento quirúrgico de la enfermedad de Parkinson y otros trastornos del movimiento. *Rev Neurol* 2000; 30: 1054-1083.

Mínguez A, López-Barneo J, Arjona V, Montoro RJ, Escamilla F, Ortega A et al. Trasplante de agregados celulares del cuerpo carotídeo en pacientes con enfermedad de Parkinson. *Neurología* 2000; 15: 580.

Mínguez A, López-Barneo J, Arjona V, Montoro RJ, Escamilla F, Ortega A et al. Transplantation of carotid body cell aggregates in patients with Parkinson's disease: a pilot study. *Parkinsonism Relat Disord* 2001; 7: S82.

Mínguez-Castellanos A, Escamilla-Sevilla F, Katati MJ, Martín-Linares JM, Meersmans M, Ortega-Moreno A et al. Different patterns of medication change after subthalamic or pallidal stimulation for Parkinson's disease: target related effect or selection bias? *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2005; 76: 34-39.

Miyawaki E, Lyons K, Pahwa R, et al. Motor complications of chronic levodopa therapy in Parkinson's disease. *Clin Neuropharmacol* 1997; 20: 523-530.

Mochizuki H, Mizuno Y. Gene therapy for Parkinson's disease. *J Neural Transm Suppl* 2003; 65: 205-213.

Moghal S, Rajput AH, D'Arcy C, Rajput R. Prevalence of movement disorders in elderly community residents. *Neuroepidemiology* 1994; 13: 175-178.

Montoro R, Ureña J, Fernández-Chacón R, Álvarez de Toledo G, López-Barneo J. Oxygen sensing by ion channels and chemotransduction in single glomus cells. *J Gen Physiol* 1996; 107: 133-143.

Morens DAM, Davis JW, Grandinetti A, Ross GW, Popper JS, White LR. Epidemiologic observations on Parkinson's disease: incidence and mortality in a prospective study of middle-aged men. *Neurology* 1996; 46: 1044-1050.

Morrish PK, Sawle GV, Brooks DJ. Regional changes in [¹⁸F] dopa metabolism in the striatum in Parkinson's disease. *Brain* 1996; 119: 2097-2103.

Morrish PK, Rakshi JS, Bailey DL, Sawle GV, Brooks DJ. Measuring the rate of progression and estimating the preclinical period of Parkinson's disease with [¹⁸F]dopa PET. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1998; 64: 314-319.

- Muñoz D. Substrato estructural del síndrome parkinsoniano. En: Obeso JA, Olanow WC, Schapira HV, Tolosa E, eds. Muerte neuronal y enfermedad de Parkinson: origen y terapéutica. Madrid: Adis International Ltd, 1999; 53-73.
- Nakai M, Itakura T, Kamei I, Nakai K, Naka Y, Imai H et al. Autologous transplantation of the superior cervical ganglion into the brain of parkinsoniano monkeys. *J Neurosurg* 1990; 72: 91-95.
- Nakao N, Frodl EM, Duan WM, Widner H, Brundin P. Lazaroids improve the survival of grafted rat embryonic dopamine neurons. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 12408-12.
- Nakao N, Nakai E, Itakura T. Ablation of the subthalamic nucleus supports the survival of nigral dopaminergic neurons after nigrostriatal lesions induced by the mitochondrial toxin 3-nitropropionic acid. *Ann Neurol* 1999; 45: 640-651.
- Nakao N, Yokote H, Nakai K, Itakura T. Promotion of survival and regeneration of nigral dopamine neurons in a rat model of Parkinson's disease after implantation of embryonal carcinoma-derived neurons genetically engineered to produce glial cell line-derived neurotrophic factor. *J Neurosurg* 2000; 92: 659-670.
- Nosrat CA, Tomac A, Lindqvist E, Lindskog S, Humpel C, Stromberg I et al. Cellular expression of GDNF mRNA suggest multiple functions inside and outside the nervous system. *Cell Tissue Res* 1996; 286: 191-207.
- Nutt JG, Burchiel KJ, Comella CL, Jankovic J, Lang AE, Laws ER et al. Randomized, double-blind trial of glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) in PD. *Neurology* 2003; 60: 69-73.
- Obeso JA, DeLong MR, Ohye C, Marsden CD, eds. The basal ganglia and new surgical approaches for Parkinson's disease. *Advances in Neurology*, vol 74. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1997a.
- Obeso JA, Rodríguez MC, DeLong MR. Basal ganglia pathophysiology. A critical review. *Adv Neurol* 1997b; 74: 3-18.
- Obeso JA, Guridi J, DeLong MR. Surgery for Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1997c; 62: 2-8.
- Obeso JA, Rodríguez-Oroz MC, Lera G. Evolución de la enfermedad de Parkinson: problemas actuales. En: Obeso JA et al., eds. Muerte neuronal y enfermedad de Parkinson: origen y terapéutica. Madrid: Adis International Ltd, 1999; 23-38.

Obeso JA, Rodriguez-Oroz MC, Rodriguez M, Lanciego JL, Artieda J; Gonzalo N et al. Pathophysiology of the basal ganglia in Parkinson's disease. *Trends Neurosci* 2000; 23 (supl.): S8-S19.

Obinu MC, Reibaud M, Blanchard V, Moussaoui S, Imperato A. Neuroprotective effect of riluzole in a primate model of Parkinson's disease: behavioural and histological evidence. *Mov Disord* 2002; 17: 13-19.

Olanow WC, Tatton WG, Obeso JA. Acción y mecanismo neuroprotector de la selegilina en la enfermedad de Parkinson. En: Obeso JA, Olanow WC, Schapira HV, Tolosa E, eds. *Muerte neuronal y enfermedad de Parkinson: origen y terapéutica*. Madrid: Adis International Ltd, 1999; 157-168.

Olanow CW, Tatton WG, Jenner P. Mechanisms of cell death in Parkinson's disease. En: Jankovic J, Tolosa E, eds. *Parkinson's disease and movement disorders (4th ed.)* Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2002; 38-59.

Olanow CW, Goetz CG, Kordower JH, Stoessl AJ, Sossi V, Brin MF et al. A double-blind controlled trial of bilateral fetal nigral transplantation in Parkinson's disease. *Ann Neurol* 2003; 54: 403-414.

Olson L, Backlund EO, Ebendal T, Freedman R, Hamberger B, Hanson P et al. Intraputaminial infusion of nerve growth factor to support adrenal medullary autografts in Parkinson's disease: one-year follow-up of first clinical trial. *Arch Neurol* 1991; 48: 373-381.

Onodera H, Okabe S, Kikuchi Y, Tsuda T, Itoyama Y. Impaired chemosensitivity and perception of dyspnoea in Parkinson's disease. *Lancet* 2000; 356: 739-740.

Ortega-Saenz P, Pardo R, García-Fernández M, López-Barneo J. Rotenone selectively reduces sensitivity to hypoxia in rat carotid body glomus cells. *J Physiol* 2003; 548: 789-800.

Ostrosky-Solis F, Quintanar L, Madrazo I, Drucker-Colin R, Franco-Bourland R, Leon-Meza V. Neuropsychological effects of brain autograft of adrenal medullary tissue for the treatment of Parkinson's disease. *Neurology* 1988; 38: 1442-1450.

Othberg AI, Willing AE, Cameron DF, Anton A, Saporta S, Freeman TB et al. Trophic effect of porcine Sertoli cells on rat and human ventral mesencephalic cells and hNT neurons in vitro. *Cell Transplant* 1998; 7: 157-164.

Palfi S, Leventhal L, Chu Y, Ma SY, Emborg M, Bakay R et al. Lentivirally delivered glial cell line-derived neurotrophic factor increases the number of striatal dopaminergic neurons in primate models of nigrostriatal degeneration. *J Neurosci* 2002; 22: 4942-4954.

Pardal R, López-Barneo J. Carotid body thin slices: responses of glomus cells to hypoxia and K (+)-channel blockers. *Respir Physiol Neurobiol* 2002a; 132: 69-79.

Pardal R, López-Barneo J. Low glucosa-sensing cells in the carotid body. *Nat Neurosci* 2002b; 5: 197-198.

Pardal R, Ludewig U, García-Hirschfeld J, López-Barneo J. Hypoxia induces voltage-dependent Ca²⁺ entry and quantal dopamine secretion in carotid body to hypoxia and tetraethylammonium. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 2361-2366.

Park KW, Eglitis MA, Mouradian MM. Protection of nigral neurons by GDNF-engineered marrow cell transplantation. *Neurosci Res* 2001; 40: 315-323.

Parkinson J. *An essay on the shaking palsy*. London: Whittingham and Rowland, 1817. (reimpresión facsímil: Tortosa: Mediscript, 1998).

Parkinson Study Group. Effects of tocopherol and deprenyl on the progression of disability in early Parkinson's disease. *N Engl J Med* 1993; 328: 176-183.

Parkinson Study Group. Effect of lazabemide on the progression of disability in early Parkinson's disease. *Ann Neurol* 1996; 40: 99-107.

Parkinson Study Group. A controlled trial of rasagiline in early Parkinson disease: the TEMPO Study. *Arch Neurol*. 2002; 59: 1937-1943.

Parkinson Study Group. A controlled, randomized, delayed-start study of rasagiline in early Parkinson disease. *Arch Neurol*. 2004; 61: 561-566.

Pastor P, Ezquerra M, Muñoz E, Martí MJ, Blesa R, Tolosa E et al. Significant association between the tau gene A0/A0 genotype and Parkinson's disease. *Ann Neurol* 2000; 47: 242-245.

Pearse AGE, Polak JM, Rost FWD, Fontaine J, Le Lievre C, Le Dourain N. Demonstration of the neural crest origin of type I (APUD) cells in the avian carotid body, using a cytochemical marker system. *Histochemie* 1973; 34: 191-203.

Penn RD, Goetz CG, Taner CM, Klawans HL, Stannon KM, Comella CL et al. The adrenal medullary transplant operation for Parkinson's disease: clinical observations in five patients. *Neurosurgery* 1988; 22: 999-1004.

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

Peschanski M, Defer G, N'Guyen JP, Ricolfi F, Monfort JC, Remy P et al. Bilateral motor improvement and alteration of L-dopa effect in two patients with Parkinson's disease following intrastriatal transplantation of foetal ventral mesencephalon. *Brain* 1994; 117: 487-499.

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

Peto V, Jenkinson C, Fitzpatrick R. PDQ-39: a review of development, validation and application of a Parkinson's disease quality of life questionnaire and its associated measures. *J Neurol* 1998; 245 (suppl 1): S10-S14.

Piallat B, Benazzouz A, Benabid AL. Subthalamic nucleus lesions in rats prevents dopaminergic nigral neuron degeneration after striatal 6-OHDA injection: behavioural and immunohistochemical studies. *Eur J Neurosci* 1996; 8: 1408-1414.

Piccini P, Brooks DJ, Björklund A, Gunn RN, Grasby PM, Rimoldi O et al. Dopamine release from nigral transplants visualized *in vivo* in a Parkinson's patient. *Nat Neurosci* 1999; 2: 1137-1140.

Price LH, Spencer DD, Marek KL, Robbins RJ, Leranth C, Farhi A et al. Psychiatric status after human fetal mesencephalic tissue transplantation in Parkinson's disease. *Biol Psychiatry* 1995; 38: 498-505.

Rajput AII, Rozdilsky B, Rajput A. Accuracy of clinical diagnosis in parkinsonism: a prospective study. *Can J Neurol Sci* 1991; 18: 275-278.

Rakic P. Adult neurogenesis in mammals: an identity crisis. *J Neurosci* 2002; 22: 614-618.

Redmond DE, Sladek JR Jr, Roth RH, Collier TJ, Elsworth JD, Deutch AY et al. Fetal neuronal grafts in monkeys given methyl-phenyl-tetrahydro-pyridine. *Lancet* 1986; 1: 1125-1127.

Remy P, Samson Y, Hantraye P, Fontaine A, Defer G, Mangin JF et al. Clinical correlates of [¹⁸F] fluorodopa uptake in five grafted parkinsoniano patients. *Ann Neurol* 1995; 38: 580-588.

Röggla G, Weber W, Röggla M. Parkinson's disease and impaired chemosensitivity to hypoxia. *Lancet* 2000; 356: 2099.

Rosenblad C, Martinez-Serrano A, Björklund A. Glial cell line-derived neurotrophic factor increases survival, growth and function of intrastriatal fetal nigral dopaminergic grafts. *Neuroscience* 1996; 75: 979-985.

Rosenthal A. Auto transplants for Parkinson's disease?. *Neuron* 1998; 20: 169-172.

Sanberg PR, Borlongan CV, Othberg AI, Saporta S, Freeman TB, Cameron DF. Testis-derived Sertoli cells have a trophic effect on dopamine neurons and alleviate hemiparkinsonism in rats. *Nat Med* 1997; 3: 1129-1132.

Sánchez-Pernaute R, Studer L, Bankiewicz KS, Major EO, McKay RDG. In vitro generation and transplantation of precursor-derived human dopamine neurons. *J Neurosci Res* 2001; 65: 284-288.

San Sebastián W, Saldise L, Manrique M, Guillén J, Arbizu J, Ciorda E et al. Beneficio motor mantenido e incremento de la captación de ^{18}F -dopa en macacos parkinsonianos implantados con agregados celulares del cuerpo carotídeo. *Neurología* 2003; 18: 491.

Sass KJ, Buchanan CP, Westerveld M, Marek K, Farhi A, Robbins RJ et al. General cognitive ability following unilateral and bilateral fetal ventral mesencephalic tissue transplantation for treatment of Parkinson's disease. *Arch Neurol* 1995; 52: 680-682.

Sawle GV, Bloomfield PM, Björklund A, Brooks DJ, Brundin P, Leenders KL et al. Transplantation of fetal dopaminergic neurons in Parkinson's disease: PET ^{18}F -fluorodopa studies in two patients with putaminal implants. *Ann Neurol* 1992; 31: 166-173.

Schaltenbrand G, Wharen W. Atlas for estereotaxy of the human brain, 2nd ed. Stuttgart: Thieme, 1977.

Schierle GS, Hansson O, Leist M, Nicotera P, Widner H, Brundin P. Caspase inhibition reduces apoptosis and increases survival of nigral transplants. *Nat Med* 1999; 5: 97-100.

Schlachetzki F, Zhang Y, Boado RJ, Pardridge WM. Gene therapy of the brain: the trans-vascular approach. *Neurology* 2004; 62: 1275-1281.

Schrag A. Epidemiology of movement disorders. En: Jankovic J, Tolosa E, eds. *Parkinson's disease and movement disorders* (4th ed.) Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2002; 73-89.

Schumacher JM, Ellias SA, Palmer EP, Kott HS, Dinsmore J, Dempsey PK et al. Transplantation of embryonic porcine mesencephalic tissue in patients with Parkinson's disease. *Neurology* 2000; 54: 1042-1049.

Scott WK, Nance MA, Watts RL, Hubble JP, Koller WC, Lyons K et al. Complete genomic screen in Parkinson disease: evidence for multiple genes. *JAMA* 2001; 286: 2239-2244.

Shapira AHV, Olanow CW. Rationale for the use of dopamine agonists as neuroprotective agents in Parkinson's disease. *Ann Neurol* 2003; 53 (suppl 3): S149-S159.

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: 1509-1519.

Shukla S, Agrawal AK, Chaturvedi RK, Seth K, Srivastava N, Sinha C et al. Co-transplantation of carotid body and ventral mesencephalic cells as an alternative approach towards functional restoration in 6-hydroxydopamine-lesioned rats: implications for Parkinson's disease. *J Neurochem* 2004; 91: 274-284.

Sladek JR, Redmond DE, Collier TJ, Haber SN, Elsworth JD, Deutch AY et al. Transplantation of fetal dopamine neurons in primate brain reverses MPTP induced parkinsonism. *Prog Brain Res* 1987; 71: 309-322.

Smit AAJ, Timmers HJLM, Wieling W, Wagenaar M, Marres HAM, Lenders JWM et al. Long-term effects of carotid sinus denervation on arterial blood pressure in humans. *Circulation* 2002; 105: 1329-1335.

Snow BJ, Tooyama I, McGeer EG, Yamada T, Calne DB, Takahashi H et al. Human positron emission tomographic [¹⁸F]fluorodopa studies correlate with dopamine cell counts and levels. *Ann Neurol* 1993; 34:324-330.

Song DD, Haber SN. Striatal responses to partial dopaminergic lesion: evidence for compensatory sprouting. *J Neurosci* 2000; 20: 5102-5114.

Spencer DD, Robbins RJ, Naftolin F, Marek KL, Vollmer T, Lerner C et al. Unilateral transplantation of human fetal mesencephalic tissue into the caudate nucleus of patients with Parkinson's disease. *N Engl J Med* 1992; 327: 1541-1548.

Starr PA, Wichmann T, van Horne C, Bakay RA. Intranigral transplantation of fetal substantia nigra allograft in the hemiparkinsonian rhesus monkey. *Cell Transplant* 1999; 8: 37-45.

Stocchi F, Olanow CW. Neuroprotection in Parkinson's disease: clinical trials. *Ann Neurol* 2003; 53 (suppl 3): S87-S99.

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: 317-325.

Strecker RE, Sharp T, Brundin 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.

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 behaviour. *Exp Brain Res* 1985; 60: 335-349.

Studer L, Tabar V, McKay RDG. Transplantation of expanded mesencephalic precursors leads to recovery in parkinsonian rats. *Nat Neurosci* 1998; 1: 290-295.

Subramanian T, Emerich DF, Bakay RA, Hoffman JM, Goodman MM, Shoup TM et al. Polymer-encapsulated PC-12 cells demonstrate high-affinity uptake of dopamine in vitro and 18F-Dopa uptake and metabolism after intracerebral implantation in nonhuman primates. *Cell Transplant* 1997; 6: 469-477.

Subramanian T, Marchionini D, Potter EM, Cornfeldt ML. Striatal xenotransplantation of human retinal pigment epithelial cells attached to microcarriers in hemiparkinsonian rats ameliorates behavioural deficits without provoking a host immune response. *Cell Transplant* 2002; 11: 207-214.

Swerdlow RH, Parks JK, Miller SW, Tuttle JB, Trimmer PA, Sheehan JP et al. Origin and functional consequences of the complex I defect in Parkinson's disease. *Ann Neurol* 1996; 40: 663-671.

Tanner CM, Goldman SM, Ross GW. Etiology of Parkinson's disease. En: Jankovic J, Tolosa E, eds. *Parkinson's disease and movement disorders* (4th ed.) Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2002; 90-103.

Testut L, Latarjet A. *Tratado de anatomía humana*. Barcelona: Salvat; 1978. pp 1133-1136.

Toledo-Aral JJ, Méndez-Ferrer S, Pardal R, López-Barneo J. Trasplantes de agregados celulares del cuerpo carotídeo en modelos animales de la enfermedad de Parkinson. *Neurología* 2000; 15 (supl 5): 80-85.

Toledo-Aral JJ, Méndez-Ferrer S, Pardal R, López-Barneo J. Dopaminergic cells of the carotid body: physiological significance and possible therapeutic applications in Parkinson's disease. *Brain Res Bull* 2002; 57: 847-853.

Toledo-Aral JJ, Méndez-Ferrer S, Pardal R, Echevarría M, López-Barneo J. Trophic restoration of the nigrostriatal dopaminergic pathway in long-term carotid body grafted parkinsonian rats. *J Neurosci* 2003; 23: 141-148.

Tomac A, Lindqvist E, Lin LF, Ogren SO, Young D, Hoffer BJ et al. Protection and repair of the nigrostriatal dopaminergic system by GDNF in vivo. *Nature* 1995; 373: 335-339.

Trott CT, Fahn S, Greene P, Dillon S, Winfield H, Winfield L et al. Cognition following bilateral implants of embryonic dopamine neurons in PD: a double blind study. *Neurology* 2003; 60: 1938-1943.

Ureña J, Fernández-Chacón R, Benot A, Álvarez de Toledo G, López-Barneo J. Hypoxia induces voltage-dependent Ca²⁺ entry and quantal dopamine secretion in carotid body glomus cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 10208-10211.

Wagers AJ, Sherwood RI, Christensen JL, Weissman IL. Little evidence for developmental plasticity of adult hematopoietic stem cells. *Science* 2002; 297: 2256-2259.

Wagner J, Akerud P, Castro DS, Holm PC, Canals JM, Snyder EY et al. Induction of a midbrain dopaminergic phenotype in Nurr1-overexpressing neural stem cells by type 1 astrocytes. *Nat Biotechnol* 1999; 17: 653-659.

Wakabayashi K, Takahashi H. Neuropathology of autonomic nervous system in Parkinson's disease. *Eur Neurol* 1997; 38 (supl 2): 2-7.

Wakayama T, Tabar V, Rodriguez I, Perry AC, Studer L, Mombaerts P. Differentiation of embryonic stem cell lines generated from adult somatic cells by nuclear transfer. *Science* 2001; 292:740-743.

Walczak P, Chen N, Hudson JE, Willing AE, Garbuzova-Davis SN, Song S et al. Do hematopoietic cells exposed to a neurogenic environment mimic properties of endogenous neural precursors? *J Neurosci Res* 2004; 76:244-254.

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

Watts RL, Mandir A, Bakay RAE. Intrastriatal cogafts of autologous adrenal medulla and sural nerve in MPTP-induced parkinsonian macaques: behavioural and anatomical assessment. *Cell Transplant* 1995; 4: 27-38.

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.

Watts RL, Raiser CD, Stover NP, Cornfeldt ML, Schweikert AW, Allen RC et al. Stereotaxic intrastriatal 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: 215-227.

- Waxman MJ, Morantz RA, Koller WC, Paone DB, Nelson PW. High incidence of cardiopulmonary complications associated with implantation of adrenal medullary tissue into the caudate nucleus in patients with advanced neurologic disease. *Crit Care Med* 1991; 19: 181-186.
- Wenning GK, Odin P, Morrish PK, Rehncrona S, Widner H, Brundin P et al. Short- and long-term survival and function of unilateral intrastriatal dopaminergic grafts in Parkinson's disease. *Ann Neurol* 1997; 42: 95-107.
- Whipp BJ, Ward SA. Physiologic changes following bilateral carotid-body resection in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Chest* 1992; 101: 656-661.
- 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: 1556-1563.
- Winkler C, Sauer H, Lee CS, Bjorklund A. Short-term GDNF treatment provides long-term rescue of lesioned nigral dopaminergic neurons in a rat model of Parkinson's disease. *J Neurosci* 1996; 16: 7206-7215.
- Yoshida H, Date I, Shingo T, Fujiwara K, Kobayashi K, Miyoshi Y et al. Stereotactic transplantation of a dopamine-producing capsule into the striatum for treatment of Parkinson disease: a preclinical primate study. *J Neurosurg* 2003; 98: 874-881.
- Yurek DM. Glial cell line-derived neurotrophic factor improves survival of dopaminergic neurons in transplants of fetal ventral mesencephalic tissue. *Exp Neurol* 1998; 153: 195-202.
- Zapata P, Zuazo A. Respiratory effects of dopamine-induced inhibition of chemosensory inflow. *Respir Physiol* 1980; 40: 79-92.
- Zigova T, Song S, Willing AE, Hudson JE, Newman MB, Saporta S et al. Human umbilical cord blood cells express neural antigens after transplantation into the developing rat brain. *Cell Transplant* 2002; 11: 265-274.
- Zetuský WJ, Jankovic J, Pirozollo FJ. The heterogeneity of Parkinson's disease: clinical and prognostic implications. *Neurology* 1985; 35: 522-526.
- Zhang Y, Calon F, Zhu C, Boado RJ, Pardridge WM. Intravenous nonviral gene therapy causes normalization of striatal tyrosine hydroxylase and reversal of motor impairment in experimental parkinsonism. *Hum Gene Ther* 2003; 14: 1-12.



ANEXO I.- ESCALA UNIFICADA PARA LA ENFERMEDAD DE PARKINSON (UPDRS) (Fahn *et al.*, 1987).

| | | OFF | ON | |
|--|------------------------------|----------------------|----|--|
| 1 | Deterioro intelectual | | | |
| 2 | Trastorno del pensamiento | | | |
| 3 | Depresión | | | |
| 4 | Motivación / Iniciativa | | | |
| TOTAL PARTE I 1-4 (máx 16) | | | | |
| 5 | Lenguaje | | | |
| 6 | Salivación | | | |
| 7 | Deglución | | | |
| 8 | Escritura | | | |
| 9 | Cortar alimentos | | | |
| 10 | Vestido | | | |
| 11 | Higiene | | | |
| 12 | Voltearse en cama | | | |
| 13 | Caídas | | | |
| 14 | Congelaciones | | | |
| 15 | Marcha | | | |
| 16 | Temblor | | | |
| 17 | Síntomas sensitivos | | | |
| TOTAL PARTE II 5-17 (máx 52) | | | | |
| 18 | Lenguaje | | | |
| 19 | Expresión facial | | | |
| 20 | Temblor de reposo | Cara, labios, mentón | | |
| | | MMSS (D/I) | | |
| | | MMII (D/I) | | |
| 21 | Temblor de acción (D/I) | | | |
| 22 | Rigidez | Cuello | | |
| | | MMSS (D/I) | | |
| | | MMII (D/I) | | |
| 23 | Índice / Pulgar (D/I) | | | |
| 24 | Abrir / Cerrar (D/I) | | | |
| 25 | Pronación / Supinación (D/I) | | | |
| 26 | Agilidad de piernas (D/I) | | | |
| 27 | Levantarse de la silla | | | |
| 28 | Postura | | | |
| 29 | Marcha | | | |
| 30 | Estabilidad postural | | | |
| 31 | Bradicinesia | | | |
| TOTAL PARTE III 18-31 (máx 108) | | | | |
| TOTAL 1-31 (máx 176) | | | | |
| 32 | Discinesias (duración) | | | |
| 33 | Discinesias (discapacidad) | | | |
| 34 | Discinesias (dolor) | | | |
| 35 | Distonía matutina | | | |
| 36 | OFF (predecibles) | | | |
| 37 | OFF (impredecibles) | | | |
| 38 | OFF (súbitos) | | | |
| 39 | OFF (duración) | | | |
| 40 | Anorexia, náuseas | | | |
| 41 | Trastorno del sueño | | | |
| 42 | Ortostatismo | | | |
| TOTAL PARTE IV 32-42 (máx 23) | | | | |
| TOTAL UPDRS (máx 199) | | | | |

PACIENTE:

Nº. Hª:

FECHA:

TRATAMIENTO ACTUAL:

DOSIS EQUIVALENTE:

TEST DE LEVODOPA.-

- Dosis:
- Latencia "on":

VÍDEO:

PARTE I.- Actividad mental, conducta y humor (referido a la semana previa).**1.- Deterioro intelectual**

- 0 Nulo.
- 1 Leve. Olvidos evidentes con recuerdo parcial de los acontecimientos, pero sin otras dificultades.
- 2 Pérdida moderada de memoria, con desorientación y ciertas dificultades para la resolución de problemas complejos. Deterioro funcional leve, aunque evidente, en el domicilio, con necesidad de ayudas ocasionales.
- 3 Pérdida grave de memoria, con desorientación temporal y, a menudo, también espacial. Dificultad severa para resolver problemas.
- 4 Pérdida grave de memoria, conservando solamente la orientación personal. Incapacidad para emitir juicios o resolver problemas. Requiere mucha ayuda en el cuidado personal. No se puede quedar solo.

2.- Trastorno del pensamiento (por demencia o toxicidad farmacológica)

- 0 No hay.
- 1 Ensueños vívidos.
- 2 Alucinaciones "benignas", conservando la capacidad de discernir.
- 3 Alucinaciones o delirios ocasionales o frecuentes, sin capacidad de discernir; pueden interferir con las actividades cotidianas.
- 4 Alucinaciones o delirios persistentes; psicosis "activa"; incapacidad para cuidarse de sí mismo.

3.- Depresión

- 0 No hay.
- 1 Períodos de tristeza o sentimientos de culpa mayores de lo normal, aunque nunca mantenidos durante días o semanas.
- 2 Depresión mantenida (1 semana o más).
- 3 Depresión mantenida, con síntomas vegetativos (insomnio, anorexia, pérdida de peso, pérdida de interés).
- 4 Depresión mantenida, con síntomas vegetativos y pensamientos o intento de suicidio.

4.- Motivación - iniciativa

- 0 Normal.
- 1 Menos enérgico de lo habitual; más pasivo.
- 2 Pérdida de iniciativa o desinterés en actividades no rutinarias.
- 3 Pérdida de iniciativa o desinterés en actividades cotidianas (rutinarias).
- 4 Aislado, sin ninguna motivación.

PARTE II.- Actividades cotidianas (especificar situación "off" u "on") (referido a la semana previa).**5.- Lenguaje hablado**

- 0 Normal.
- 1 Levemente alterado; sin dificultades para ser comprendido.
- 2 Moderadamente alterado; a veces hay que pedirle que repita.
- 3 Muy alterado; con frecuencia hay que pedirle que repita.
- 4 Ininteligible la mayor parte del tiempo.

6.- Salivación

- 0 Normal.
- 1 Exceso de saliva en la boca, leve pero evidente; puede sufrir babeo nocturno.
- 2 Moderado exceso de saliva; puede tener un babeo mínimo.
- 3 Marcado exceso de saliva, con cierto grado de babeo.
- 4 Marcado babeo; requiere constantemente el uso de gasas o pañuelos.

7.- Deglución

- 0 Normal.
- 1 Rara vez se atraganta.

- 2 Se atraganta ocasionalmente.
- 3 Requiere dieta blanda.
- 4 Requiere alimentación por sonda nasogástrica o gastrostomía.

8.- Escritura

- 0 Normal.
- 1 Ligeramente lenta o pequeña.
- 2 Moderadamente lenta o pequeña; todas las palabras son legibles.
- 3 Muy alterada; no todas las palabras son legibles.
- 4 La mayoría de las palabras son ilegibles.

9.- Cortar alimentos y manejar cubiertos

- 0 Normal.
- 1 Algo lento y torpe, pero no necesita ayuda.
- 2 Puede cortar la mayoría de los alimentos, aunque con torpeza y lentitud; necesita cierta ayuda.
- 3 Le tienen que cortar los alimentos, pero aún puede alimentarse lentamente.
- 4 Precisa ser alimentado.

10.- Vestido

- 0 Normal.
- 1 Algo lento, pero no necesita ayuda.
- 2 Requiere ayuda en ocasiones, como para abotonarse o introducir los brazos en las mangas.
- 3 Requiere bastante ayuda, pero todavía puede hacer algunas cosas solo.
- 4 Precisa ayuda completa.

11.- Higiene

- 0 Normal.
- 1 Algo lento, pero no necesita ayuda.
- 2 Necesita ayuda para ducharse o bañarse, o es muy lento en las actividades higiénicas.
- 3 Requiere ayuda para lavarse, cepillarse los dientes, peinarse e ir al cuarto de baño.
- 4 Precisa sonda de Foley u otras ayudas mecánicas.

12.- Darse la vuelta en la cama y ajustar las sábanas

- 0 Normal
- 1 Algo lento y torpe, pero no precisa ayuda.
- 2 Puede darse la vuelta solo o ajustar las sábanas, pero con gran dificultad.
- 3 Puede intentarlo, pero no llega a darse la vuelta o ajustar las sábanas solo.
- 4 Precisa ayuda completa.

13.- Caídas (no relacionadas con el fenómeno de "congelación")

- 0 Ninguna.
- 1 Rara vez.
- 2 Se cae ocasionalmente, menos de una vez al día.
- 3 Se cae como promedio una vez al día.
- 4 Se cae más de una vez al día.

14.- "Congelación" de la marcha

- 0 No hay.
- 1 Rara vez aparece "congelación" al caminar; puede haber titubeo al inicio.
- 2 "Congelación" ocasional en el curso de la marcha.
- 3 "Congelación" frecuente al caminar, causando caídas ocasionales.
- 4 Frecuentes caídas motivadas por "congelación" de la marcha.

15.- Marcha

- 0 Normal.
- 1 Leve dificultad; puede no balancear los brazos o tiende a arrastrar las piernas.
- 2 Dificultad moderada, pero requiere poca o ninguna ayuda.
- 3 Trastorno grave de la marcha, que requiere ayuda.
- 4 No puede caminar, incluso con ayuda.

16.- Temblor

- 0 Ausente.
- 1 Ligero y poco frecuente.
- 2 Moderado; molesto para el paciente.
- 3 Intenso; interfiere con muchas actividades.
- 4 Marcado; interfiere con la mayoría de actividades.

17.- Síntomas sensitivos relacionados con el parkinsonismo

- 0 Ninguno.
- 1 Ocasionalmente tiene entumecimiento, hormigueo o dolor leve.
- 2 Con frecuencia tiene entumecimiento, hormigueo o dolor; no preocupante.
- 3 Frecuentes sensaciones dolorosas.
- 4 Dolor extremo.

PARTE III.- Exploración motora (especificar situación "off" u "on").**18.- Lenguaje hablado**

- 0 Normal.
- 1 Leve pérdida de expresión, dicción y/o volumen de la voz.
- 2 Monótono, farfullado, pero comprensible; moderadamente alterado.
- 3 Muy alterado, difícil de comprender.
- 4 Ininteligible.

19.- Expresión facial

- 0 Normal.
- 1 Hipomimia mínima; podría ser normal ("cara de jugador de póker").
- 2 Disminución discreta, pero claramente anormal de la expresión facial.
- 3 Hipomimia moderada; labios separados en algunas ocasiones.
- 4 Cara de "máscara", con pérdida acusada o completa de la expresión facial; labios separados 0,6 cm. o más.

20.- Temblor de reposo (puntuán por separado la cabeza y cada extremidad).

- 0 Ausente.
- 1 Ligero y poco frecuente.
- 2 De amplitud leve y continuo, o de amplitud moderada y aparición intermitente.
- 3 De amplitud moderada y presente la mayor parte del tiempo.
- 4 De gran amplitud y presente la mayor parte del tiempo.

21.- Temblor de acción de las manos (puntuá cada mano por separado).

- 0 Ausente.
- 1 Leve; presente con la actividad.
- 2 De amplitud moderada; presente con la actividad.
- 3 De amplitud moderada; presente al mantener una postura y con la actividad.
- 4 De gran amplitud; dificulta la alimentación.

22 - Rigidez (valorada mediante la movilización pasiva de las grandes articulaciones, con el paciente sentado y relajado; puntuá por separado el cuello y cada extremidad).

- 0 Ausente.
- 1 Leve, o sólo detectable cuando se activa por movimientos contralaterales u otros.
- 2 Discreta a moderada.
- 3 Intensa, pero se consigue alcanzar con facilidad la máxima amplitud del movimiento.
- 4 Muy intensa; la máxima amplitud del movimiento se logra con dificultad.

23.- Golpeteo índice-pulgar (*finger taps*) (el paciente golpea el pulgar contra el índice en rápida sucesión con la mayor amplitud posible; puntuá cada mano por separado).

- 0 Normal.
- 1 Leve enlentecimiento y/o reducción de la amplitud.
- 2 Moderadamente alterado; fatiga clara y precoz; puede haber detenciones ocasionales del movimiento.

- 3 Muy alterado; frecuente titubeo al iniciar el movimiento o detenciones mientras se realiza.
 - 4 Apenas puede realizar el ejercicio.
- 24.- Abrir y cerrar las manos** (el paciente abre y cierra las manos en rápida sucesión con la mayor amplitud posible; puntúa cada mano por separado).
- 0 Normal.
 - 1 Leve enlentecimiento y/o reducción de la amplitud.
 - 2 Moderadamente alterado; fatiga clara y precoz; puede haber detenciones ocasionales del movimiento.
 - 3 Muy alterado; frecuente titubeo al iniciar el movimiento o detenciones mientras se realiza.
 - 4 Apenas puede realizar el ejercicio.
- 25.- Movimientos de prono-supinación** (el paciente realiza movimientos de prono-supinación de las manos en rápida sucesión con la mayor amplitud posible, en sentido vertical u horizontal, ambas manos simultáneamente; puntúa cada mano por separado).
- 0 Normal.
 - 1 Discreto enlentecimiento y/o reducción en amplitud.
 - 2 Moderadamente alterados. Fatigoso de manera evidente y precoz. Puede haber ocasionales detenciones en el movimiento.
 - 3 Muy alterados. Frecuentes titubeos al iniciar los movimientos o detenciones mientras se realizan los movimientos.
 - 4 Apenas puede realizarlos.
- 26.- Agilidad de las piernas** (el paciente golpea el talón contra el suelo en rápida sucesión, levantando la pierna por completo; la amplitud del movimiento debe ser de 7-8 cm; puntúa cada pierna por separado).
- 0 Normal.
 - 1 Discreto enlentecimiento y/o reducción en amplitud.
 - 2 Moderadamente alterados. Fatigoso de manera evidente y precoz. Puede haber ocasionales detenciones en el movimiento.
 - 3 Muy alterados. Frecuentes titubeos al iniciar los movimientos o detenciones mientras se realizan los movimientos.
 - 4 Apenas puede realizarlos.
- 27.- Levantarse de la silla** (el paciente intenta levantarse de una silla de madera o metal de respaldo recto, con los brazos cruzados sobre el pecho).
- 0 Normal.
 - 1 Lento, o puede necesitar más de un intento.
 - 2 Se levanta apoyándose en los brazos del asiento.
 - 3 Tiende a caer hacia atrás y puede intentarlo más de una vez, pero puede conseguirlo sin ayuda.
 - 4 Incapaz de levantarse sin ayuda.
- 28.- Postura**
- 0 Postura normal.
 - 1 No totalmente erguido, levemente encorvado; podría ser normal en una persona mayor.
 - 2 Postura moderada encorvada, claramente anormal; puede inclinarse ligeramente hacia un lado.
 - 3 Postura muy encorvada, con cifosis; puede inclinarse moderadamente hacia un lado.
 - 4 Flexión marcada con extrema alteración postural.
- 29.- Marcha**
- 0 Normal.
 - 1 Camina lentamente; puede arrastrar los pies y los pasos pueden ser cortos, pero no existe festinación ni propulsión.
 - 2 Camina con dificultad, pero requiere poca o ninguna ayuda; puede existir cierta festinación, pasos cortos o propulsión.
 - 3 Grave trastorno de la marcha que requiere ayuda.
 - 4 No puede caminar, incluso con ayuda.

- 30.- **Estabilidad postural** (se observa la respuesta a un desplazamiento súbito hacia atrás, provocado por un tirón sobre los hombros mientras el paciente permanece en bipedestación con los ojos abiertos y los pies ligeramente separados; estando previamente avisado).
- 0 Normal.
 - 1 Retropulsión, aunque se recupera sin ayuda.
 - 2 Ausencia de reflejo postural; hubiera caído de no impedirlo el evaluador.
 - 3 Muy inestable; tiende a perder el equilibrio espontáneamente.
 - 4 Incapaz de permanecer en pie sin ayuda.
- 31.- **Bradicinesia e hipocinesia** (combinación de lentitud, indecisión, disminución del braceo, pequeña amplitud y pobreza de movimientos durante la marcha).
- 0 No hay.
 - 1 Mínima lentitud, dando al movimiento un carácter deliberado; podría ser normal en algunas personas; posible reducción de la amplitud.
 - 2 Grado leve de lentitud y pobreza de movimientos, claramente anormal; cierto grado de reducción de la amplitud.
 - 3 Moderada lentitud, pobreza o pequeña amplitud de movimientos.
 - 4 Marcada lentitud, pobreza o pequeña amplitud de movimientos.

PARTE IV. Complicaciones del tratamiento (referidas a la semana previa).

A.- DISQUINESIAS

- 32.- **Duración:** ¿Qué proporción de las horas despierto están presentes las disquinesias?

- 0 Ninguna.
- 1 1-25% del día.
- 2 26-50% del día.
- 3 51-75% del día.
- 4 76-100% del día.

- 33.- **Discapacidad:** ¿Hasta qué punto producen discapacidad las disquinesias?

- 0 No son incapacitantes.
- 1 Ligeramente incapacitantes.
- 2 Moderadamente incapacitantes.
- 3 Gravemente incapacitantes.
- 4 Incapacidad total.

- 34.- **Dolor:** ¿Hasta qué punto producen dolor las disquinesias?

- 0 No son dolorosas.
- 1 Dolor leve.
- 2 Dolor moderado.
- 3 Dolor severo.
- 4 Dolor extremo.

- 35.- **Presencia de distonía matutina**

- 0 No.
- 1 Sí.

B.- FLUCTUACIONES CLÍNICAS

- 36.- **¿Aparecen algunos periodos “off” de forma PREDECIBLE en relación con las tomas de medicación?**

- 0 No.
- 1 Sí.

- 37.- **¿Aparecen algunos periodos “off” de forma IMPREDECIBLE en relación con las tomas de medicación?**

- 0 No.
- 1 Sí.

38.- ¿Algunos de los periodos “off” se instauran de forma SÚBITA (en pocos segundos)?

0 No.

1 Sí.

39.- ¿Qué proporción de las horas de vigilia está el paciente en situación “off” como promedio?

0 Ninguna.

1 1-25% del día.

2 26-50% del día.

3 51-75% del día.

4 76-100% del día.

C.- OTRAS COMPLICACIONES

40.- ¿Tiene el paciente anorexia, náuseas o vómitos?

0 = No

1 = Sí

41.- ¿Tiene el paciente algún trastorno del sueño, tal como insomnio o hipersomnolencia?

0 = No

1 = Sí

42.- ¿Tiene el paciente síntomas de ortostatismo?

0 = No

1 = Sí

ANEXO II.- ESTADIOS DE HOEHN Y YAHR (Hoehn y Yahr, 1967).

En pacientes con fluctuaciones motoras, especificar situación “off” y “on”

ESTADIO 0: Ausencia de signos patológicos.

ESTADIO 1: Alteración unilateral.

ESTADIO 1'5: Alteración unilateral con afectación axial.

ESTADIO 2: Alteración bilateral, sin deterioro del equilibrio.

ESTADIO 2'5: Alteración bilateral leve con recuperación en la prueba del empujón.

ESTADIO 3: Alteración bilateral leve a moderada; cierta inestabilidad postural; físicamente independiente.

ESTADIO 4: Incapacidad grave; capaz todavía de caminar o permanecer de pie sin ayuda.

ESTADIO 5: Confinado en cama o silla de ruedas a no ser que se le ayude.

ANEXO III.- ESCALA DE SCHWAB Y ENGLAND (Schwab y England, 1969).

En pacientes con fluctuaciones motoras, especificar situación “off” y “on”

- 100 %** Completamente independiente.
Capaz de realizar todos los quehaceres sin lentitud, dificultad o limitación. Prácticamente normal. No percibe ninguna dificultad.
- 90 %** Completamente independiente.
Capaz de realizar todos los quehaceres con cierto grado de lentitud, dificultad o limitación. Podría necesitar un tiempo dos veces superior. Comienza a ser consciente de sus dificultades.
- 80 %** Completamente independiente en la mayoría de las tareas.
Invierte un tiempo dos veces superior. Consciente de su dificultad y lentitud.
- 70 %** No es completamente independiente.
Tiene más dificultad en algunas tareas, en las que invierte un tiempo de tres a cuatro veces superior. Debe dedicar a sus tareas habituales una gran parte del día.
- 60 %** Cierta dependencia. Puede realizar la mayor parte de los quehaceres, aunque muy lentamente y con gran esfuerzo. Errores; algunas tareas son imposibles.
- 50 %** Mayor dependencia. Precisa ayuda para la mitad de sus actividades, más lento.
Dificultad con todas las tareas.
- 40 %** Muy dependiente. Colabora en la mayor parte de las actividades, pero realiza pocas solo.
- 30 %** Con esfuerzo, en ocasiones realiza algunas tareas sólo o las comienza sólo. Requiere mucha ayuda.
- 20 %** No hace nada sin ayuda. Puede colaborar un poco en algunas tareas. Invalidez grave.
- 10%** Totalmente dependiente, desvalido. Invalidez completa.
- 0 %** Las funciones vegetativas como deglución, micción y defecación no se realizan con normalidad. Permanece en cama.

NOTA: En este estudio se ha utilizado la escala de Schwab y England con valores absolutos (0-100), a fin de evitar confusiones cuando se utilizan porcentajes de cambio de otras variables respecto a su valor prequirúrgico.

ANEXO IV.- ÍNDICE DE BARTHEL (Mahoney y Barthel, 1965).

En pacientes con fluctuaciones motoras, especificar situación “off” y “on”. La puntuación total se calcula sumando la obtenida en cada ítem.

ALIMENTACIÓN

- 10 puntos: capaz de utilizar cualquier instrumento; pelar, cortar, desmenuzar (la comida se le puede poner a su alcance).
- 5 puntos: precisa ayuda.
- 0 puntos: necesita ser alimentado.

BAÑO

- 5 puntos: capaz de lavarse entero solo, incluyendo entrar y salir de la bañera.
- 0 puntos: necesita cualquier ayuda.

VESTIDO

- 10 puntos: independiente; se abrocha botones, se ata zapatos...
- 5 puntos: necesita ayuda, pero hace buena parte de las tareas habitualmente.
- 0 puntos: dependiente; necesita mucha ayuda.

ASEO

- 5 puntos: independiente; se peina, se afeita, se lava los dientes...
- 0 puntos: precisa alguna ayuda.

RETRETE

- 10 puntos: independiente; entra y sale del retrete, se limpia... (puede usar ayudas técnicas).
- 5 puntos: necesita ayuda.
- 0 puntos: dependiente; incapaz de manejarse sin asistencia.

DEFECACIÓN

- 10 puntos: continente e independiente; si lo precisa, es capaz de utilizar sólo el supositorio o enema.
- 5 puntos: alguna defecación no controlada.
- 0 puntos: incontinente o dependiente (precisa que le administren el enema).

MICCIÓN

- 10 puntos: continente.
- 5 puntos: algún escape ocasional; usa los dispositivos por sí mismo.
- 0 puntos: incontinente o dependiente.

DEAMBULACIÓN

- 15 puntos: independiente; camina al menos 50 metros sólo (puede usar bastón o muleta).
- 10 puntos: necesita ayuda; camina al menos 50 metros con supervisión física, verbal o andador.
- 5 puntos: utiliza la silla de ruedas con independencia al menos 50 metros, capaz de girar esquinas.
- 0 puntos: incapaz de desplazarse sólo en silla de ruedas.

SUBIR Y BAJAR ESCALERAS

- 10 puntos: independiente.
- 5 puntos: necesita ayuda física o verbal.
- 0 puntos: incapaz.

TRASLADO ENTRE LA SILLA Y LA CAMA (O VICEVERSA)

- 15 puntos: independiente.
- 10 puntos: necesita poca ayuda; supervisión física o verbal.
- 5 puntos: necesita mucha ayuda, una persona entrenada o dos personas; se mantiene sentado.
- 0 puntos: incapaz; no se mantiene sentado.

ANEXO V.- ESCALA DE DISQUINESIAS DEL PROTOCOLO CAPIT (Langston *et al.*, 1992).

La puntuación global es la media aritmética de las puntuaciones de dos sub-escalas: intensidad y duración.

A) INTENSIDAD DE LAS DISQUINESIAS:

- 0** Ausentes.
- 1** Severidad mínima; el paciente no se da cuenta.
- 2** El paciente es consciente de las disquinesias, pero no interfieren con sus actos motores.
- 3** Las disquinesias pueden afectar a los movimientos voluntarios, pero el paciente es capaz habitualmente de realizar la mayoría de sus tareas motoras.
- 4** Intensa interferencia con el control de los movimientos; las actividades cotidianas están limitadas en gran medida.
- 5** Disquinesias violentas, incompatibles con cualquier tarea motora normal.

B) DURACIÓN DE LAS DISQUINESIAS:

- 0** Ausentes.
- 1** Sólo están presentes durante la realización de tareas motoras.
- 2** Presentes durante el 25-50% de las horas de vigilia.
- 3** Presentes durante el 51-75% de las horas de vigilia.
- 4** Presentes durante el 76-99% de las horas de vigilia.
- 5** Continuas durante todo el día.

ANEXO VI.- PRUEBAS CRONOMETRADAS DE FUNCIÓN MOTORA.-

Adaptadas de los protocolos CAPIT (Langston *et al.*, 1992) y CAPSIT-PD (Defer *et al.*, 1999).

1.- PRUEBA DE LOS MIEMBROS SUPERIORES:

Sobre un tablero rígido con dos puntos separados 30 cm., el paciente debe golpear con su dedo índice ambos puntos de forma alternativa lo más rápido posible. Se cronometra el tiempo (segundos) que tarda en realizar 10 ciclos completos; se repite dos veces con cada mano y se anota el mejor resultado.

| | OFF | | ON | |
|----------------------------|-----|---|----|---|
| | D | I | D | I |
| 1ª prueba (segundos) | | | | |
| 2ª prueba (segundos) | | | | |
| Mejor resultado (segundos) | | | | |

2.- PRUEBA DE LA MARCHA:

El paciente debe andar lo más rápido posible un trayecto de 7 m., incluido la ida, el giro y la vuelta. Se cronometra el tiempo (segundos) que tarda hasta la posición de partida, se computa el número de pasos y el número de “congelaciones” de la marcha si las hubiera.

| | OFF | ON |
|------------------------------|-----|----|
| Tiempo (segundos) | | |
| Número de pasos | | |
| “Congelaciones” de la marcha | | |

ANEXO VII.- PROTOCOLO DE VIDEOFILMACIÓN (Adaptado de Lang, 1995).

| Vista | Tiempo | Detalles |
|--|-------------------------|---|
| Vista frontal sentado. | | |
| Plano general de frente | 30 seg. | Paciente sentado frente a la cámara, a unos 3 metros. La imagen incluye todo el cuerpo. Los antebrazos descansan sobre los brazos de la silla en semi-pronación. Los pies apoyados en el suelo y ligeramente separados. |
| Zoom hacia la cara. | | |
| Primer plano de la cara. (ítem 18, 19 y 20 de UPDRS III) | 10 seg. (variable) | Mantener toda la cara en la imagen. Hacer contar al paciente hacia atrás de 20 hasta 1. |
| Zoom hacia las manos y hacia las piernas. | | |
| Primer plano de las manos en reposo y de las piernas en reposo. (ítem 20 de UPDRS III) | 10 seg. + 10 seg. | La imagen debe incluir ambas manos y ambas piernas. |
| Volver al plano general de frente. | | |
| Brazos extendidos. (ítem 21 de UPDRS III) | 10 seg. | Brazos extendidos hacia delante a la altura de los hombros, con las palmas de las manos hacia abajo. El paciente permanece con los ojos abiertos. |
| Prueba "dedo-nariz". Derecho / Izquierdo. (ítem 21 de UPDRS III) | 10 seg. + 10 seg. | El paciente toca repetidamente con su dedo índice la punta de su nariz y extiende el brazo. El paciente permanece con los ojos abiertos. La velocidad del movimiento no cambia. |
| Zoom hacia las manos. | | |
| Golpeteo "índice-pulgar" (" <i>finger taps</i> "). Derecho / Izquierdo. (ítem 23 de UPDRS III) | 10 seg. + 10 seg. | El paciente golpea los dedos índice y pulgar en rápida sucesión con la mayor amplitud posible. |
| Abrir y cerrar las manos. Derecho / Izquierdo. (ítem 24 de UPDRS III) | 10 seg. + 10 seg. | El paciente abre y cierra las manos en rápida sucesión con la mayor amplitud posible. |
| Movimientos de prono-supinación. Derecho / Izquierdo. (ítem 25 de UPDRS III) | 10 seg. + 10 seg. | El paciente realiza movimientos de prono-supinación, con las manos, en sentido vertical u horizontal, con la mayor amplitud posible. |
| Vista lateral sentado. | | |
| Golpeteo con el talón. Derecho / Izquierdo. (ítem 26 de UPDRS III) | 10 seg. + 10 seg. | El paciente golpea sucesivamente el suelo con el talón en rápida sucesión. Debe levantar toda la pierna, con una amplitud de 7-8 cm. |
| Levantarse de la silla. (ítem 27 de UPDRS III) | 20 seg. | El paciente intenta levantarse de la silla con los brazos cruzados sobre el pecho; en un segundo tiempo puede apoyarse en los brazos de la silla si lo precisa. |
| Vista lateral en bipedestación. | | |
| Postura. (ítem 28 de UPDRS III) | 10 seg. | El paciente se mantiene en bipedestación. |
| Marcha. (ítem 29 de UPDRS III) | 30 seg. | El paciente camina 4-5 metros, gira, vuelve a caminar 4-5 metros y vuelve a girar. |
| Estabilidad postural. (ítem 30 de UPDRS III) | 10 seg. | Un asistente se coloca de espaldas al paciente. Después de avisarle, le da un empujón hacia atrás sujetándolo por los hombros. |

ANEXO VIII.- DIARIO DE FLUCTUACIONES (Adaptado de Lang, 1995).

Durante la semana previa a cada visita el paciente y/o cuidador debe cumplimentar el siguiente diario. Para ello tiene que anotar, mediante una cruz, la situación motora en la que se encuentra a cada hora del día.

Se reproduce a continuación la casilla correspondiente a uno de los 7 días:

FECHA:

| ESTADO ▼ | Madrugada | | | | Mañana | | | | | | | | Tarde | | | | Noche | | | | | | | | |
|---|-----------|---|---|---|--------|---|---|---|---|----|----|----|-------|---|---|---|-------|---|---|---|---|----|----|----|--|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | |
| Bien con movimientos ("on" con disquinesias) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Bien ("on") | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Regular ("on" parcial) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Mal ("off") | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Durmiendo | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

Los pacientes y/o cuidadores son adiestrados previamente en su cumplimentación. Además, se adjunta la siguiente información escrita en la que se definen las 5 situaciones posibles:

"Bien con movimientos" ("on con disquinesias"): Cuando la medicación ha hecho su mejor efecto, pero el paciente presenta importantes movimientos involuntarios que le incapacitan para realizar sus actividades. El temblor rítmico no se considera dentro de estos movimientos.

"Bien" ("on"): Cuando la medicación ha hecho su mejor efecto, encontrándose el paciente con una mejor movilidad y con mayor capacidad para realizar sus actividades. Puede tener movimientos involuntarios leves, pero no especialmente incapacitantes.

"Regular" ("on" parcial): Cuando el paciente ha apreciado el efecto de la medicación, pero no de forma importante, persistiendo cierto grado de dificultad para moverse, rigidez y/o temblor.

"Mal" ("off"): Cuando el paciente no ha apreciado efecto alguno de la medicación, por lo que presenta un mayor grado de dificultad para moverse y/o rigidez. Algunos pacientes pueden presentar además temblor rítmico más o menos intenso.

"Durmiendo": Al despertar, anotar una cruz en las horas durante las que ha permanecido durmiendo.

ANEXO IX.- CUESTIONARIO DE CALIDAD DE VIDA PDQ-39 (Peto *et al.*, 1998; Martínez-Martín *et al.*, 1998).

Como consecuencia de la enfermedad de Parkinson, ¿con qué frecuencia ha tenido durante el último mes los siguientes problemas o sentimientos?

| | Nunca | Ocasional- mente | Algunas veces | Frecuen- temente | Siempre o incapaz |
|--|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 1. Dificultad para realizar las actividades de ocio que le gustaría hacer | <input type="checkbox"/> |
| 2. Dificultad para realizar tareas de la casa (ej.: reparaciones, cocinar, ordenar cosas, decorar, limpieza ...) | <input type="checkbox"/> |
| 3. Dificultad para cargar con paquetes o las bolsas de la compra | <input type="checkbox"/> |
| 4. Problemas para caminar una distancia de unos 750 metros | <input type="checkbox"/> |
| 5. Problemas para caminar unos 100 metros | <input type="checkbox"/> |
| 6. Problemas para dar una vuelta alrededor de casa con tanta facilidad como le gustaría | <input type="checkbox"/> |
| 7. Problemas para moverse en sitios públicos | <input type="checkbox"/> |
| 8. Necesidad de que alguien le acompañara cuando salía a la calle | <input type="checkbox"/> |
| 9. Sensación de miedo o preocupación por si se caía en público | <input type="checkbox"/> |
| 10. Permanecer confinado en casa más tiempo del que usted desearía | <input type="checkbox"/> |
| 11. Dificultades para su aseo personal | <input type="checkbox"/> |
| 12. Dificultades para vestirse solo | <input type="checkbox"/> |
| 13. Problemas para abotonarse la ropa o atarse los cordones de los zapatos | <input type="checkbox"/> |
| 14. Problemas para escribir con claridad | <input type="checkbox"/> |
| 15. Dificultad para cortar alimentos | <input type="checkbox"/> |
| 16. Dificultades para sostener un vaso o una taza sin derramar el contenido | <input type="checkbox"/> |
| 17. Sensación de depresión | <input type="checkbox"/> |
| 18. Sensación de soledad y aislamiento | <input type="checkbox"/> |
| 19. Sensación de estar lloroso o con ganas de llorar | <input type="checkbox"/> |

| | | | | | |
|---|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 20. Sensación de enfado o amargura | <input type="checkbox"/> |
| 21. Sensación de ansiedad o nerviosismo | <input type="checkbox"/> |
| 22. Preocupación acerca de su futuro | <input type="checkbox"/> |
| 23. Tendencia a ocultar su enfermedad de Parkinson a la gente | <input type="checkbox"/> |
| 24. Evitar situaciones que impliquen comer o beber en público | <input type="checkbox"/> |
| 25. Sentimiento de vergüenza en público debido a tener la enfermedad de Parkinson | <input type="checkbox"/> |
| 26. Sentimiento de preocupación por la reacción de otras personas hacia usted | <input type="checkbox"/> |
| 27. Problemas en las relaciones personales con las personas íntimas | <input type="checkbox"/> |
| 28. Falta de apoyo de su esposo/a o pareja de la manera que usted necesitaba | <input type="checkbox"/> |
| <i>Si usted no tiene esposo/a o pareja, marque esta casilla, por favor</i> | | | | | |
| 29. Falta de apoyo de sus familiares o amigos íntimos de la manera que usted necesitaba | <input type="checkbox"/> |
| 30. Quedarse inesperadamente dormido durante el día | <input type="checkbox"/> |
| 31. Problemas para concentrarse; por ejemplo, cuando lee o ve la televisión | <input type="checkbox"/> |
| 32. Sensación de que su memoria funciona mal | <input type="checkbox"/> |
| 33. Alucinaciones o pesadillas inquietantes | <input type="checkbox"/> |
| 34. Dificultad para hablar | <input type="checkbox"/> |
| 35. Incapacidad para comunicarse adecuadamente con la gente | <input type="checkbox"/> |
| 36. Sensación de que la gente le ignora | <input type="checkbox"/> |
| 37. Calambres musculares o espasmos dolorosos | <input type="checkbox"/> |
| 38. Molestias o dolores en las articulaciones o en el cuerpo | <input type="checkbox"/> |
| 39. Sensaciones desagradables de calor o frío | <input type="checkbox"/> |

Por favor, compruebe que ha contestado todas las preguntas. Gracias por contestar este cuestionario.

NOTA: Se trata de un cuestionario auto-administrado por los pacientes. La puntuación total es la suma de la puntuación de cada ítem, considerando: Nunca = 0 puntos; ocasionalmente, rara vez = 1 punto; algunas veces, de vez en cuando = 2 puntos; frecuentemente, a menudo = 3 puntos; siempre, incapaz de hacerlo = 4 puntos. Comprende 8 dimensiones: movilidad (ítems 1 -10); actividades cotidianas (ítems 11-16); bienestar emocional (ítems 17-22); estigma (ítems 23-26); apoyo social (ítems 27-29); problemas cognitivos (ítems 30-33); comunicación (ítems 34-36) y malestar corporal (ítems 37-39).

ANEXO X.- CONSENTIMIENTO INFORMADO.**TRASPLANTE DE AGREGADOS CELULARES DEL CUERPO CAROTÍDEO EN
PACIENTES CON ENFERMEDAD DE PARKINSON**

El paciente, familiar o representante deberán anotar su nombre y firmar la última página de este modelo de consentimiento antes de participar en el estudio.

1.- Descripción del estudio

El presente estudio piloto pretende evaluar la eficacia y seguridad de una nueva modalidad experimental de trasplante como tratamiento de la enfermedad de Parkinson (EP). Se trata de implantar en el cerebro células productoras de dopamina (sustancia deficiente en la EP) procedentes de una pequeña "glándula" situada en el cuello del mismo paciente denominada cuerpo carotídeo.

En los últimos 10-15 años se ha acumulado una amplia evidencia experimental en trasplantes de diversos tejidos productores de dopamina en el cerebro de pacientes con EP, siendo los resultados clínicos globalmente muy variables. Aunque algunos de estos procedimientos, como el trasplante de células procedentes de cerebros de fetos, ofrecen unos resultados prometedores, sin embargo existen importantes limitaciones prácticas derivadas de la escasa disponibilidad y de problemas ético-legales. Además, al tratarse de células extrañas al organismo, tras el trasplante se utiliza un tratamiento crónico para evitar el rechazo (medicación inmunosupresora), lo que añade un riesgo de complicaciones a medio y largo plazo por los posibles efectos secundarios de los fármacos empleados. Recientemente se ha demostrado en animales de experimentación la eficacia del trasplante de células procedentes del propio cuerpo carotídeo. Este tejido tiene importantes ventajas como son su accesibilidad, la facilidad de adaptación en el cerebro y su capacidad para producir dopamina. Además, al tratarse de células del propio individuo no existe riesgo de rechazo ni de transmitir infecciones, siendo innecesarias las medicaciones inmunosupresoras.

2.- Procedimiento quirúrgico

La intervención se realiza bajo anestesia general. En primer lugar se procede a la extirpación de un cuerpo carotídeo a través de una pequeña incisión en un lado del cuello. De forma inmediata, el equipo de expertos comienza la preparación de este tejido para su implantación en el cerebro. Mientras tanto se realiza un escáner cerebral y se calculan las coordenadas de los puntos del cerebro dónde se realiza el trasplante (4 puntos en el núcleo

estriado derecho y 4 en el izquierdo). Se hacen dos pequeños orificios craneales (derecho e izquierdo), a través de los cuáles se introducen los agregados de células del cuerpo carotídeo. Tras la sutura quirúrgica, el paciente es trasladado a Reanimación de Anestesia.

3.- Visitas y pruebas

Los pacientes que participen en este estudio piloto deben cumplir una serie de requisitos, sistematizados en unos criterios de inclusión y exclusión precisos.

Previo al trasplante se realizarán en nuestro Centro diversas evaluaciones clínicas, videofilmación, tests neuropsicológicos y resonancia magnética cerebral. Tras el trasplante, el paciente deberá seguir de forma estricta las recomendaciones sobre el tratamiento farmacológico y acudirá regularmente a las visitas de seguimiento cada tres meses. A lo largo del año siguiente se repetirán las evaluaciones clínicas, videofilmación, tests neuropsicológicos y resonancia magnética cerebral. Se le pedirá asimismo que en cada visita traiga cumplimentado un diario con su situación clínica durante la semana previa.

Para conocer si las células implantadas han sobrevivido y están funcionando es necesario realizar un estudio mediante PET con fluorodopa antes de la intervención y otro al año después de ésta. Estas pruebas se realizarán en el Hospital Hammersmith de Londres, por ser el Centro europeo con mayor experiencia en esta técnica. Para ello será necesario que realice 2 viajes a Londres, donde permanecerá durante 2 días en cada ocasión. Irá acompañado en todo momento de personal médico español, que se responsabilizará de su adecuada asistencia hasta su regreso. Todos los gastos del viaje, estancia y manutención estarán cubiertos para usted (y para otra persona acompañante si fuera necesario) y asimismo dispondrán de un seguro de viaje. Deberá leer el documento adjunto donde se le explica en qué consiste esta prueba, firmándolo al final si está de acuerdo en su realización.

4.- Riesgos e inconvenientes

Es conocido que todo acto quirúrgico implica un riesgo de posibles complicaciones derivadas de los múltiples procesos que intervienen. Así, según las etapas de las que consta el procedimiento quirúrgico, se informará verbalmente al paciente de forma exhaustiva de las posibles complicaciones, ponderando de forma estimativa su probabilidad, según la experiencia previa de nuestro Centro y los datos publicados en la literatura médica.

Los riesgos más importantes son:

- a) Anestesia: El Servicio de Anestesia, tras la evaluación del candidato quirúrgico, informará al paciente de los riesgos relacionados con la anestesia general y solicitará su consentimiento por escrito.

- b) Extirpación del cuerpo carotídeo: Aunque infrecuentes, durante este procedimiento también pueden presentarse complicaciones (fundamentalmente hinchazón de los tejidos del cuello, hematomas, infección de la herida o lesión de las estructuras vasculo-nerviosas), que sólo excepcionalmente podrían llevar a situaciones graves. Hoy conocemos que la falta de un cuerpo carotídeo no conlleva posteriormente problemas para el paciente.
- c) Procedimiento estereotáctico (por el que se introducen las células en el cerebro): La complicación potencialmente más grave es la eventual ocurrencia de una hemorragia cerebral, que puede aparecer aproximadamente en el 1-6% de las intervenciones estereotácticas. La hemorragia puede resolverse sin secuelas o bien producir síntomas, reversibles o permanentes, más o menos graves: fundamentalmente pérdida de fuerza, trastorno sensitivo, del lenguaje, de la visión o de la memoria. Aunque muy excepcional en equipos quirúrgicos experimentados, podría incluso llevar a la muerte. En menos del 1% de los pacientes pueden aparecer infecciones o crisis epilépticas en el postoperatorio, siendo otras complicaciones más infrecuentes.

Una vez transcurrido el periodo postquirúrgico inicial, no son esperables riesgos adicionales clínicamente relevantes a largo plazo, atendiendo a los datos científicos conocidos en la actualidad. Uno de los objetivos de este estudio piloto será evaluar este aspecto a medio y largo plazo.

5.- Beneficios potenciales y alternativas

El beneficio que se espera de la intervención es una mejoría de los síntomas parkinsonianos a medio y largo plazo, teniendo en cuenta los datos científicos conocidos en la actualidad. Esta mejoría podría permitir la reducción de la medicación antiparkinsoniana necesaria. No obstante, como en todo estudio piloto experimental, no es posible estimar la probabilidad o el grado de mejoría alcanzable en cada caso. Es un objetivo de este estudio el evaluar la eficacia del procedimiento en distintos pacientes, teniendo en cuenta los diferentes factores implicados.

Hoy en día no conocemos un tratamiento "curativo" para la EP, en el sentido de que pueda detener o revertir el proceso degenerativo subyacente. Por tanto, la alternativa a participar en este estudio es continuar con los tratamientos farmacológicos conocidos, en las combinaciones y dosis necesarias para producir el mayor beneficio sintomático y funcional. Algunos pacientes pueden ser candidatos en algún momento evolutivo a un procedimiento de cirugía estereotáctica funcional (lesión o estimulación de determinados núcleos cerebrales) con el fin de mejorar algunos síntomas concretos de la enfermedad.

6.- Confidencialidad

En todo momento se respetará el anonimato del paciente y su confidencialidad. Los datos médicos recogidos en este estudio podrán ser revisados por los científicos implicados y los resultados publicados en alguna revista médica o comunicados en alguna reunión científica. En cualquier caso no se utilizarán nombres y no podrán difundirse otros datos personales sin la autorización expresa del paciente.

El Sistema Nacional de Salud está sometiendo a éste, y a otros procedimientos quirúrgicos, a un estudio denominado “Uso Tutelado de los tratamientos neuroquirúrgicos de la enfermedad de Parkinson”, lo que supone que los datos médicos recogidos podrán ser transmitidos a la Agencia de Evaluación de Tecnologías Sanitarias de Andalucía. La utilización de estos datos se ajustará asimismo a los principios de confidencialidad establecidos por la ley, de tal forma que en todo momento se respete el anonimato del paciente.

7.- Voluntariedad

La participación en el estudio es totalmente voluntaria, habiendo sido decidida libremente. En cualquier momento el paciente podrá cambiar de opinión, sin que ello afecte a su tratamiento futuro ni a su relación con los médicos.

8.- Dudas y preguntas

El paciente podrá y deberá formular todas las preguntas que desee hasta que sus dudas hayan sido suficientemente aclaradas.



**TRASPLANTE DE AGREGGADOS CELULARES DEL
CUERPO CAROTÍDEO EN PACIENTES CON
ENFERMEDAD DE PARKINSON**

Yo, (Nombre del paciente)... ..,
con DNI nº:

Yo, (Nombre del tutor, representante legal o testigo)... ..,
con DNI nº:, en calidad de

Manifiesto que:

- He sido informado/a por el equipo médico responsable de este estudio acerca de sus objetivos, de los métodos utilizados, de los beneficios que se esperan y de sus riesgos e inconvenientes. También conozco las alternativas de tratamiento, teniendo en cuenta mi situación actual.
- He sido informado por el equipo médico sobre el estudio de "Uso tutelado" al que está sometido esta intervención.
- Además de la información verbal he leído el impreso adjunto, estando de acuerdo con todos sus puntos. He podido realizar preguntas y mis dudas han sido suficientemente aclaradas.
- Comprendo que mi decisión es libre y voluntaria, y que puedo revocar este consentimiento en cualquier momento sin que ello repercuta en mis cuidados médicos posteriores.

Presto libremente mi conformidad para participar en este estudio y autorizo al equipo médico a realizar aquellas actuaciones médicas adicionales que eventualmente pudieran considerarse necesarias.

En Granada, a de de 20.....

Firma del paciente:

Firma del tutor, representante legal o testigo:

Firma del médico:

Nombre:

Nombre:

Nombre:

ANEXO XI.- CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA LOS ESTUDIOS MEDIANTE PET CEREBRAL CON ¹⁸F-DOPA.-

**MRC Cyclotron Unit
Imperial College School of Medicine
Hammersmith Hospital
LONDRES (REINO UNIDO)**

Hoja informativa para el paciente (usted recibirá una copia de esta hoja informativa)

Invitación

Le proponemos participar en un estudio de investigación. Antes de tomar la decisión, es importante que comprenda porqué se realiza este estudio y qué implicaciones tiene. Por favor, tómese su tiempo en leer cuidadosamente la siguiente información y coméntela con familiares y amigos si así lo desea. Pregúntenos si algo no le ha quedado claro o si desea más información.

¿Cuál es el propósito del estudio?

Lea detenidamente la descripción del estudio en el documento adjunto. En resumen, la intervención que se le ha propuesto consiste en extirpar una pequeña "glándula" denominada cuerpo carotídeo, situada junto a uno de los vasos sanguíneos del cuello, e implantarla en su cerebro, con el fin de intentar aliviar su enfermedad de Parkinson. El propósito de este estudio es evaluar la supervivencia a largo plazo de estas células implantadas.

¿Por qué he sido elegido?

Usted ha sido elegido para participar en este estudio porque sus síntomas de la enfermedad de Parkinson no mejoran satisfactoriamente utilizando sólo medicamentos.

¿Tengo que participar?

Usted decidirá si desea participar o no. Si decide participar, se le dará una copia de esta hoja informativa y se le pedirá que firme el formulario de consentimiento. En cualquier caso, siempre podrá cambiar de opinión sin necesidad de dar explicaciones y sin que ello afecte a la asistencia que reciba.

¿Qué me ocurrirá si participo?

Se le pedirá que acuda al MRC Cyclotron Building en el Hospital Hammersmith de Londres en al menos 2 ocasiones para realizarle un escáner cerebral especial denominado PET.

Se le realizará esta prueba antes de la operación y a los 6-12 meses después de la misma. Posiblemente también se podrá realizar esta prueba a los 24 y a los 36 meses tras la cirugía si el implante está funcionando bien.

Al inicio del PET será necesario inyectarle en una vena del brazo una pequeña dosis radioactiva de levodopa (que es el principio activo del Sinemet o Madopar que usted toma). Se trata de un procedimiento muy simple, similar a cuando se realiza un análisis de sangre. Después se le pedirá que se tumbe boca arriba sobre una camilla, con la cabeza en el escáner. Será necesario que esté tumbado durante aproximadamente 2 horas, lo que puede ser algo incómodo.

Tras finalizar el PET (en el caso del estudio prequirúrgico y del primero postquirúrgico), se le realizará una resonancia magnética, que durará alrededor de 15 minutos. Esta prueba es similar a la que ya se ha hecho en España y, como sabe, se necesita que esté tumbado dentro de un tubo, lo que puede ser ruidoso y algo claustrofóbico. La resonancia produce un fuerte campo magnético, por lo que no se le podrá realizar si fuera portador de objetos metálicos tales como clips quirúrgicos o marcapasos.

Todos los gastos del viaje en avión, estancia y manutención en Londres estarán cubiertos para usted (y para otra persona acompañante si fuera necesario) y asimismo dispondrán de un seguro de viaje. Estará acompañado en todo momento por personal médico español, que se responsabilizará de su adecuada asistencia hasta su regreso.

¿Qué tengo yo que hacer?

El PET se realizará durante la mañana. Le pediremos que no tome ninguna medicación para la enfermedad de Parkinson esa mañana y que desayune algo ligero sin café ni té. Algunos medicamentos (como cabergolina) puede que tengan que suspenderse varios días antes. Ya conoce que, al suspender la medicación, sus síntomas podrán empeorar transitoriamente. Tan pronto como el PET haya finalizado será posible reanudar su medicación.

¿Qué efectos secundarios podría tener por participar?

El pequeño tubo de plástico (cánula) insertado en una vena del brazo podría causarle un pequeño hematoma en la zona. La dosis de radiación que recibirá por inyectarle la levodopa radioactiva será equivalente a diez veces la radiación ambiental a la que estamos expuestos anualmente en España. La Unidad MRC Cyclotron del Hospital Hammersmith de Londres viene realizando esta prueba desde hace muchos años y considera que esta dosis de radioactividad no se asocia con problemas de salud significativos.

¿Qué otros inconvenientes tendría por participar?

El principal inconveniente de este estudio será la necesidad de viajar a Londres en al menos 2 ocasiones.

¿Qué beneficios podría tener por participar?

El PET nos dirá si el trasplante ha sobrevivido y está funcionando.

¿Qué pasaría si algo va mal?

En el caso improbable de que presentara cualquier efecto adverso como consecuencia directa de su participación en este estudio, tendría derecho a compensación a través de un seguro de la Facultad de Medicina del Imperial College de Londres ("*No-Fault compensation scheme*").

¿Será confidencial mi participación en este estudio?

Solo tendrán acceso a los resultados de sus pruebas los miembros del equipo del MRC Cyclotron Building.

¿Qué ocurrirá con los resultados de la investigación?

Los resultados de esta investigación podrán ser publicados en una revista científica al finalizar el periodo de estudio, con el fin de dar a conocer la información obtenida a la comunidad científica y médica. No se comunicarán nombres ni otros datos personales, respetándose en todo momento el anonimato de los pacientes.

¿Quién organiza y financia la investigación?

El trabajo está financiado por el Medical Research Council.

¿Quién ha revisado el estudio?

Este proyecto ha sido revisado por los Comités éticos de investigación de los Hospitales Hammersmith, Queen Charlotte's y Chelsea and Acton de Londres. Asimismo, ha sido revisado por el Comité ético del Hospital Virgen de las Nieves de Granada.

**MRC Cyclotron Unit
Imperial College School of Medicine
Hammersmith Hospital
LONDRES (REINO UNIDO)**

**TRASPLANTE DE AGREGADOS CELULARES DEL CUERPO
CAROTÍDEO EN PACIENTES CON ENFERMEDAD DE PARKINSON**

CONSENTIMIENTO DEL PARTICIPANTE: PET CON FLUORODOPA *(Spanish)*

El/la participante debe completar este formulario por si mismo/a. (por favor, marque cada casilla si lo considera adecuado):

He leído la Hoja Informativa adjunta

He podido realizar preguntas sobre este estudio

He recibido respuestas satisfactorias a todas mis preguntas

He recibido información completa y suficiente acerca del estudio

El estudio me lo ha explicado: Dr/a.....

Entiendo que me puedo retirar de este estudio en cualquier momento si así lo considero oportuno, sin tener que dar explicaciones y sin que este hecho afecte a mi atención medica futura

Estoy de acuerdo con participar en este estudio

Firma del paciente:

Firma del investigador:

Nombre (mayúsculas):

Nombre (mayúsculas):

Fecha:

Fecha:

ANEXO XII.- EVOLUCIÓN INDIVIDUAL DE LAS PRINCIPALES VARIABLES CLÍNICAS (TABLAS XII.1 Y XII.2).-

| PACIENTES ► | A 1 | A 2 | A 3 | A 4 | A 5 | A 6 |
|----------------------------------|------------|------------|-----------|------------|-----------|------------|
| BASAL | | | | | | |
| UPDRS total en "off" | 130 | 46 | 58 | 59 | 98 | 51 |
| - UPDRS I | 2 | 2 | 0 | 1 | 0 | 1 |
| - UPDRS II | 35 | 13 | 17 | 17 | 29 | 12 |
| - UPDRS III (cegada) | 78 | 27 | 35 | 31 | 60 | 29 |
| - UPDRS IV | 15 | 4 | 6 | 10 | 9 | 9 |
| Tiempo en "off" (item 39) | 2 | 2 | 3 | 1 | 1 | 2 |
| Escala de disquinesias CAPIT | 2'5 | 0 | 1 | 3'5 | 1'5 | 2 |
| Escala Schwab & England en "off" | 20 | 80 | 70 | 80 | 20 | 80 |
| Dosis equivalente de L-dopa (mg) | 914 | 750 | 850 | 671 | 1818 | 500 |
| 3 MESES | | | | | | |
| UPDRS total en "off" | 98 (-25%) | 23 (-50%) | 63 (+9%) | 44 (-25%) | 61 (-38%) | 43 (-16%) |
| - UPDRS I | 2 (0) | 0 (-2) | 0 (0) | 1 (0) | 0 (0) | 2 (+1) |
| - UPDRS II | 28 (-20%) | 9 (-31%) | 17 (0) | 12 (-29%) | 21 (-28%) | 12 (0) |
| - UPDRS III (cegada) | 62 (-21%) | 10 (-63%) | 35 (0) | 24 (-23%) | 36 (-40%) | 23 (-21%) |
| - UPDRS IV | 6 (-60%) | 4 (0) | 6 (0) | 7 (-30%) | 4 (-56%) | 6 (-33%) |
| Tiempo en "off" (item 39) | 1 (-1) | 1 (-1) | 2 (-1) | 2 (+1) | 1 (0) | 3 (+1) |
| Escala de disquinesias CAPIT | 2 (-0'5) | 0 (0) | 1 (0) | 2 (-1'5) | 2 (+0'5) | 1 (-1) |
| Escala Schwab & England en "off" | 40 (+20) | 90 (+10) | 60 (-10) | 90 (+10) | 20 (0) | 90 (+10) |
| Dosis equivalente de L-dopa (mg) | 914 (0) | 750 (0) | 850 (0) | 671 (0) | 1818 (0) | 500 (0) |
| 6 MESES | | | | | | |
| UPDRS total en "off" | 102 (-22%) | 16 (-65%) | 66 (+14%) | 39 (-34%) | 65 (-34%) | 36 (-29%) |
| - UPDRS I | 5 (+3) | 0 (-2) | 0 (0) | 1 (0) | 0 (0) | 1 (0) |
| - UPDRS II | 28 (-20%) | 7 (-46%) | 17 (0) | 12 (-29%) | 22 (-24%) | 9 (-25%) |
| - UPDRS III (cegada) | 58 (-26%) | 7 (-74%) | 40 (+14%) | 20 (-35%) | 36 (-40%) | 21 (-28%) |
| - UPDRS IV | 11 (-27%) | 2 (-50%) | 9 (+50%) | 6 (-40%) | 7 (-22%) | 5 (-44%) |
| Tiempo en "off" (item 39) | 1 (-1) | 1 (-1) | 3 (0) | 2 (+1) | 1 (0) | 3 (+1) |
| Escala de disquinesias CAPIT | 2'5 (0) | 0 (0) | 1 (0) | 2'5 (-1) | 2 (+0'5) | 1 (-1) |
| Escala Schwab & England en "off" | 40 (+20) | 90 (+10) | 70 (0) | 90 (+10) | 40 (+20) | 90 (+10) |
| Dosis equivalente de L-dopa (mg) | 914 (0) | 600 (-20%) | 850 (0) | 471 (-30%) | 1818 (0) | 500 (0) |
| 12 MESES | | | | | | |
| UPDRS total en "off" | 105 (-19%) | 23 (-50%) | 55 (-5%) | 50 (-15%) | 83 (-15%) | 30 (-41%) |
| - UPDRS I | 6 (+4) | 0 (-2) | 1 (+1) | 2 (+1) | 3 (+3) | 0 (-1) |
| - UPDRS II | 32 (-9%) | 7 (-46%) | 14 (-18%) | 12 (-29%) | 22 (-24%) | 8 (-33%) |
| - UPDRS III (cegada) | 59 (-24%) | 13 (-52%) | 35 (0) | 27 (-13%) | 50 (-17%) | 18 (-38%) |
| - UPDRS IV | 8 (-47%) | 3 (-25%) | 5 (-17%) | 9 (-10%) | 8 (-11%) | 4 (-56%) |
| Tiempo en "off" (item 39) | 2 (0) | 1 (-1) | 3 (0) | 1 (0) | 2 (+1) | 1 (-1) |
| Escala de disquinesias CAPIT | 2 (-0'5) | 0 (0) | 0 (-1) | 3'5 (0) | 1'5 (0) | 1'5 (-0'5) |
| Escala Schwab & England en "off" | 30 (+10) | 90 (+10) | 70 (0) | 90 (+10) | 40 (+20) | 90 (+10) |
| Dosis equivalente de L-dopa (mg) | 914 (0) | 525 (-30%) | 850 (0) | 471 (-30%) | 1818 (0) | 700 (+40%) |
| 18 MESES | | | | | | |
| UPDRS total en "off" | 115 (-12%) | 25 (-46%) | --- | 51 (-14%) | 93 (-5%) | 35 (-31%) |
| - UPDRS I | 6 (+4) | 0 (-2) | --- | 0 (-1) | 1 (+1) | 1 (0) |
| - UPDRS II | 33 (-6%) | 7 (-46%) | --- | 14 (-18%) | 25 (-14%) | 11 (-8%) |
| - UPDRS III (cegada) | 68 (-13%) | 15 (-44%) | --- | 28 (-10%) | 60 (0) | 20 (-31%) |
| - UPDRS IV | 8 (-47%) | 3 (-25%) | --- | 9 (-10%) | 7 (-22%) | 3 (-67%) |
| Tiempo en "off" (item 39) | 1 (-1) | 1 (-1) | --- | 1 (0) | 2 (+1) | 1 (-1) |
| Escala de disquinesias CAPIT | 2 (-0'5) | 0 (0) | --- | 3'5 (0) | 1'5 (0) | 1 (-1) |
| Escala Schwab & England en "off" | 30 (+10) | 90 (+10) | --- | 80 (0) | 40 (+20) | 90 (+10) |
| Dosis equivalente de L-dopa (mg) | 914 (0) | 525 (-30%) | --- | 371 (-45%) | 1818 (0) | 700 (+40%) |

| PACIENTES ► | A 1 | A 2 | A 3 | A 4 | A 5 | A 6 |
|----------------------------------|--------------------|------------------|------------------|-------------------|------------------|---------------------|
| 2 AÑOS | | | | | | |
| UPDRS total en "off" | 100 (-23%) | 28 (-39%) | 73 (+26%) | 49 (-17%) | 80 (-18%) | 48 (-6%) |
| - UPDRS I | 4 (+2) | 0 (-2) | 1 (+1) | 2 (+1) | 3 (+3) | 2 (+1) |
| - UPDRS II | 27 (-23%) | 7 (-46%) | 17 (0) | 14 (-18%) | 26 (-10%) | 15 (+25%) |
| - UPDRS III (cegada) | 60 (-23%) | 18 (-33%) | 48 (+37%) | 25 (-19%) | 44 (-27%) | 25 (-14%) |
| - UPDRS IV | 9 (-40%) | 3 (-25%) | 7 (+17%) | 8 (-20%) | 7 (-22%) | 6 (-33%) |
| Tiempo en "off" (item 39) | 1 (-1) | 1 (-1) | 3 (0) | 3 (+2) | 2 (+1) | 2 (0) |
| Escala de disquinesias CAPIT | 3 (+0'5) | 0 (0) | 1 (0) | 4 (+0'5) | 1'5 (0) | 1'5 (-0'5) |
| Escala Schwab & England en "off" | 40 (+20) | 90 (+10) | 70 (0) | 80 (0) | 40 (+20) | 80 (0) |
| Dosis equivalente de L-dopa (mg) | 914 (0) | 750 (0) | 850 (0) | 300 (-55%) | 1818 (0) | 958 (+92%) |
| ECP Gpi | | | | | | |
| 3 AÑOS | | | | | | |
| UPDRS total en "off" | 113 (-13%) | 24 (-48%) | --- | 72 (+22%) | 77 (-21%) | 57 (+12%) |
| - UPDRS I | 6 (+4) | 0 (-2) | --- | 0 (-1) | 2 (+2) | 2 (+1) |
| - UPDRS II | 33 (-6%) | 6 (-54%) | --- | 25 (+47%) | 26 (-10%) | 17 (+42%) |
| - UPDRS III (cegada) | 66 (-15%) | 14 (-48%) | --- | 36 (+16%) | 43 (-28%) | 30 (+3%) |
| - UPDRS IV | 8 (-47%) | 4 (0) | --- | 11 (+10%) | 6 (-33%) | 8 (-11%) |
| Tiempo en "off" (item 39) | 2 (0) | 1 (-1) | --- | 1 (0) | 2 (+1) | 1 (-1) |
| Escala de disquinesias CAPIT | 2 (-0'5) | 0 (0) | --- | 4 (+0'5) | 1'5 (0) | 2 (0) |
| Escala Schwab & England en "off" | 40 (+20) | 90 (+10) | --- | 80 (0) | 40 (+20) | 70 (-10) |
| Dosis equivalente de L-dopa (mg) | 1214 (+33%) | 750 (0) | --- | 671 (0) | 1818 (0) | 1268 (+154%) |
| ECP Gpi | | | | | | |

Tabla XII.1.- Evolución de las principales variables clínicas en los 6 pacientes del primer sub-estudio. Se indica el valor de cada variable (véase descripción en los apartados IV.6.1, IV.9.1 y Anexos). Entre paréntesis se hace referencia al cambio absoluto o relativo (porcentaje) respecto al valor prequirúrgico, teniendo en cuenta que el signo + indica incremento y el signo - reducción. La mejoría clínica se manifiesta como reducción en todas las variables mostradas, excepto en la escala de Schwab & England, que es a la inversa. Se destacan en color rojo los cambios en la escala UPDRS III en "off" (cegada) y en la dosis equivalente de levodopa. Los pacientes A3 y A4 fueron intervenidos mediante estimulación cerebral profunda del globo pálido interno (ECP Gpi) bilateral a los 2 y 3 años de seguimiento respectivamente. El paciente A3 no realizó la evaluación de los 18 meses, ni las posteriores a los 2 años por haberse intervenido mediante ECP (se indica mediante --- los valores faltantes). Abreviaturas.- véase apartado X.

| PACIENTES ► | B 1 | B 2 | B 3 | B 4 | B5 | B7 |
|-------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| BASAL | | | | | | |
| UPDRS total en "off" | 77 | 71 | 64 | 87 | 47 | 69 |
| - UPDRS I | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 1 |
| - UPDRS II | 26 | 21 | 19 | 25 | 15 | 19 |
| - UPDRS III (cegada) | 42 | 45 | 40 | 52 | 22 | 39 |
| - UPDRS IV | 9 | 5 | 5 | 7 | 10 | 10 |
| Tiempo en "off" (item 39) | 2 | 1 | 1 | 2 | 2 | 1 |
| Escala de disquinesias CAPIT | 1'5 | 1 | 0'5 | 0 | 1 | 1 |
| Schwab & England en "off" | 20 | 40 | 50 | 40 | 60 | 60 |
| Dosis equivalente L-dopa (mg) | 1543 | 1868 | 1063 | 1218 | 964 | 700 |
| 3 MESES | | | | | | |
| UPDRS total en "off" | 58 (-25%) | 70 (-1%) | 71 (+11%) | 70 (-20%) | 26 (-45%) | 62 (-10%) |
| - UPDRS I | 0 (0) | 0 (0) | 1 (+1) | 2 (-1) | 0 (0) | 1 (0) |
| - UPDRS II | 23 (-12%) | 22 (+5%) | 20 (+5%) | 21 (-16%) | 9 (-40%) | 15 (-21%) |
| - UPDRS III (cegada) | 30 (-29%) | 43 (-4%) | 45 (+13%) | 43 (-17%) | 13 (-41%) | 42 (+8%) |
| - UPDRS IV | 5 (-44%) | 5 (0) | 5 (0) | 4 (-43%) | 4 (-60%) | 4 (-60%) |
| Tiempo en "off" (item 39) | 1 (-1) | 1 (0) | 2 (+1) | 1 (-1) | 2 (0) | 1 (0) |
| Escala de disquinesias CAPIT | 0'5 (-1) | 1'5 (+0'5) | 1 (+0'5) | 0 (0) | 1 (0) | 0 (-1) |
| Schwab & England en "off" | 40 (+20) | 40 (0) | 60 (+10) | 50 (+10) | 80 (+20) | 70 (+10) |
| Dosis equivalente L-dopa (mg) | 1543 (0) | 1868 (0) | 900 (-15%) | 1268 (+4%) | 964 (0) | 700 (0) |
| 6 MESES | | | | | | |
| UPDRS total en "off" | 62 (-19%) | 71 (0) | 51 (-20%) | 68 (-22%) | 44 (-6%) | 50 (-28%) |
| - UPDRS I | 1 (+1) | 0 (0) | 0 (0) | 1 (-2) | 1 (+1) | 1 (0) |
| - UPDRS II | 22 (-15%) | 20 (-5%) | 19 (0) | 20 (-20%) | 17 (+13%) | 15 (-21%) |
| - UPDRS III (cegada) | 33 (-21%) | 45 (0) | 29 (-28%) | 45 (-13%) | 21 (-5%) | 32 (-18%) |
| - UPDRS IV | 6 (-33%) | 6 (+20%) | 3 (-40%) | 2 (-71%) | 5 (-50%) | 2 (-80%) |
| Tiempo en "off" (item 39) | 1 (-1) | 2 (+1) | 2 (+1) | 1 (-1) | 2 (0) | 1 (0) |
| Escala de disquinesias CAPIT | 1'5 (0) | 1 (0) | 0 (-0'5) | 0 (0) | 1 (0) | 0 (-1) |
| Schwab & England en "off" | 60 (+40) | 60 (+20) | 70 (+20) | 70 (+30) | 50 (-10) | 80 (+20) |
| Dosis equivalente L-dopa (mg) | 1543 (0) | 1693 (-9%) | 1013 (-5%) | 1268 (+4%) | 1027 (+7%) | 700 (0) |
| 12 MESES | | | | | | |
| UPDRS total en "off" | 72 (-6%) | 76 (+7%) | 73 (+14%) | 69 (-21%) | 54 (+15%) | 40 (-42%) |
| - UPDRS I | 2 (+2) | 0 (0) | 0 (0) | 0 (-3) | 0 (0) | 0 (-1) |
| - UPDRS II | 23 (-12%) | 18 (-14%) | 19 (0) | 20 (-20%) | 15 (0) | 12 (-37%) |
| - UPDRS III (cegada) | 39 (-7%) | 52 (+16%) | 46 (+15%) | 45 (-13%) | 34 (+55%) | 26 (-33%) |
| - UPDRS IV | 8 (-11%) | 6 (+20%) | 8 (+60%) | 4 (-43%) | 5 (-50%) | 2 (-80%) |
| Tiempo en "off" (item 39) | 2 (0) | 1 (0) | 2 (+1) | 2 (0) | 2 (0) | 1 (0) |
| Escala de disquinesias CAPIT | 0'5 (-1) | 1,5 (+0'5) | 0 (-0'5) | 0 (0) | 0 (-1) | 0 (-1) |
| Schwab & England en "off" | 40 (+20) | 50 (+10) | 55 (+5) | 60 (+20) | 60 (0) | 80 (+20) |
| Dosis equivalente L-dopa (mg) | 1400 (-9%) | 1773 (-5%) | 688 (-35%) | 1268 (+4%) | 843 (-13%) | 400 (-43%) |

Tabla XII.2.- Evolución de las principales variables clínicas en 6 pacientes del segundo sub-estudio (la paciente B6 no se incluye por haber sufrido una complicación grave - apartado V.2.2 -). Véase la leyenda al pie de la tabla XII.2.