



## **FACULTAD DE FARMACIA**

Grado en Farmacia

# **POTENCIALES APLICACIONES DE LA TERAPIA GÉNICA EN EL TRATAMIENTO DE LA ENFERMEDAD DE PARKINSON**

Memoria de Trabajo Fin de Grado

Sant Joan d'Alacant

Junio 2019

**Autor: Virginia Soler Rescalvo**

Modalidad: Revisión bibliográfica

**Tutor/es: Francisco Navarrete Rueda**

# ÍNDICE

1.	RESUMEN .....	3
2.	INTRODUCCIÓN .....	5
3.	OBJETIVOS .....	14
3.1	Objetivo General .....	14
3.2	Objetivos específicos.....	14
4.	MATERIAL Y MÉTODOS .....	15
4.1	Diseño del trabajo .....	15
4.2	Fuente de extracción de documentos.....	15
4.3	Metodología de búsqueda .....	15
4.4	Selección de documentos .....	16
5.	RESULTADOS .....	17
5.1	Resultados de la búsqueda .....	17
5.2	Análisis de los resultados .....	18
5.2.1	Generalidades de la terapia génica en la EP .....	18
I.	Tipos de terapia génica: .....	18
II.	Genes diana de la terapia génica en la EP:.....	19
III.	Objetivos de la terapia génica en la EP .....	20
IV.	Modelos de vectores empleados .....	20
V.	Método de administración.....	21
VI.	Investigación preclínica en la EP .....	22
5.2.2	Terapia génica enfocada a mejorar la sintomatología de la EP .....	23
I.	L-Aminoácido aromático descarboxilasa (AADC) .....	24
II.	Tirosina hidroxilasa (TH) .....	25
III.	Ácido glutámico descarboxilasa (GAD).....	26
5.2.3	Terapia génica dirigida a modificar el curso de la EP .....	27
I.	Factor neurotrófico derivado de la glía (GDNF) y neurturina (NTN) .....	27
6.	DISCUSIÓN.....	29
7.	CONCLUSIÓN .....	32
8.	REFERENCIAS.....	33

## 1. RESUMEN

La **enfermedad de Parkinson (EP)** es una enfermedad neurodegenerativa caracterizada por la pérdida progresiva de neuronas dopaminérgicas en la vía nigroestriatal. Los síntomas aparecen lentamente de manera progresiva, siendo cuatro los denominados síntomas cardinales: bradicinesia, inestabilidad postural, rigidez y temblor en reposo. El curso natural de la enfermedad va acompañado en su inicio de alteraciones motoras y, a medida que la enfermedad evoluciona, los síntomas motores empeoran y pueden producirse alteraciones neuropsiquiátricas, deteriorando la calidad de vida de los pacientes. Actualmente, esta enfermedad no tiene cura y los tratamientos farmacológicos utilizados, principalmente la levodopa (L-Dopa), están orientados a mejorar la sintomatología motora. Sin embargo, todavía no se dispone de tratamientos que logren abordar desde un punto de vista etiológico la patología, con el objetivo de modificar su evolución clínica. Por estas razones, se hace evidente la necesidad de buscar nuevas estrategias terapéuticas. En este sentido el desarrollo de la terapia génica aplicada a la EP ha suscitado un reciente interés, pudiendo constituir una nueva aproximación para mejorar su manejo clínico.

Este trabajo tiene como objetivo revisar la utilidad de la terapia génica en la EP. Para ello, se ha realizado una revisión bibliográfica que analiza la información disponible en la literatura científica en relación con las aplicaciones de la terapia génica como tratamiento de la EP.

Los artículos científicos analizados se obtuvieron a partir de la búsqueda en las bases de datos *MedLine* (a través de su buscador *PubMed*) y *The Cochrane Library*. Se utilizaron descriptores (MeSH) y conectores booleanos para enunciar la ecuación de búsqueda y, a continuación, se aplicaron una serie de filtros y criterios de selección hasta obtener los artículos que constituyeron el análisis documental.

Se obtuvieron un total de 27 artículos, de los cuales se extrajo toda la información referida a las generalidades de la terapia génica, las distintas aproximaciones en la EP en cuanto al abordaje sintomático o modificador de la enfermedad, y los resultados obtenidos de los distintos ensayos preclínicos (animales) y clínicos realizados con esta técnica.

La información analizada en este trabajo sugiere que la terapia génica se caracteriza por una buena tolerabilidad, y que podría constituir un tratamiento coadyuvante a la terapia farmacológica que se emplea actualmente. Dicha combinación haría posible la disminución de las dosis normalmente empleadas con la consecuente minimización de las reacciones adversas. Sin embargo, es necesario realizar un mayor número de estudios que avalen la aplicación clínica de la terapia génica y la posición que ocuparía en el tratamiento de la EP.

**Palabras clave:** terapia génica, enfermedad de Parkinson, tratamiento sintomático, modificación del curso de la enfermedad.



## 2. INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Parkinson (EP) es la segunda enfermedad neurodegenerativa más frecuente tras la enfermedad del Alzheimer<sup>1</sup>, con una prevalencia de 1 cada 800 habitantes, y cuyas cifras se duplicarán entre 2005 y 2030<sup>2</sup>. La EP es poco frecuente antes de los 50 años de edad, pero su incidencia aumenta de 5 a 10 veces desde la sexta a la novena década de la vida<sup>2</sup>, siendo la edad el principal factor de riesgo. Además, esta enfermedad es dos veces más común en hombres que en mujeres en la mayoría de las poblaciones, circunstancia que sugiere un efecto protector de los estrógenos.

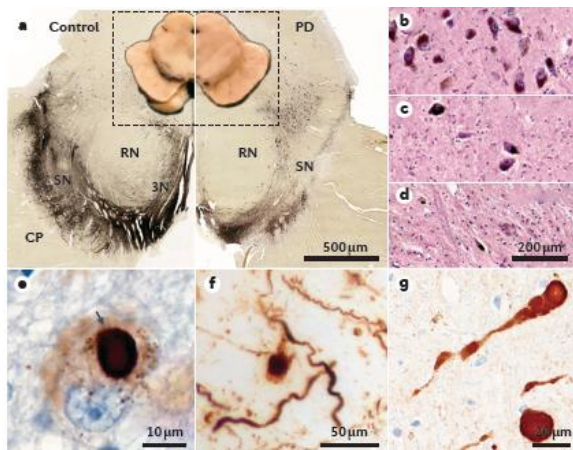
La EP se caracteriza por la aparición de los denominados cuatro **síntomas cardinales** que conducen al diagnóstico de la enfermedad: bradicinesia, rigidez, temblor en reposo e inestabilidad postural. Sin embargo, al inicio de la enfermedad el paciente puede manifestar síntomas más inespecíficos que pueden ayudar a una detección temprana como pérdida de olfato, alteración del sueño, estreñimiento y fluctuaciones en el estado de ánimo, entre los más representativos. Además, cabe destacar que las alteraciones motoras de la EP se acompañan muy frecuentemente de alteraciones neuropsiquiátricas como depresión, apatía, fatiga, ansiedad y problemas de atención que no se evidencian tan claramente, y sin embargo afectan de una manera estrepitosa a la calidad de vida de los pacientes. El curso natural de la EP es de progresión gradual, con un deterioro funcional que se produce durante años. Por ello, la atención sanitaria y el tratamiento farmacológico debe abordar todos los aspectos que la enfermedad conlleve en cada paciente de manera individualizada y según sus necesidades. Los clínicos e investigadores utilizan la *Unified Parkinson's Disease Rating Scale* ([UPDRS](#)) o escala unificada para la evaluación de la EP, para seguir la progresión de la enfermedad. Se valoran los síntomas motores, estado mental, actividades de la vida diaria y las complicaciones de la terapia.

El **diagnóstico** de la EP está basado en la clínica y la historia natural del paciente, que se apoya en la detección de los cuatro síntomas cardinales mencionados anteriormente. La edad promedio de inicio se sitúa a finales de los 50 años de edad, en un rango comprendido entre los 50 y 80 años. El inicio joven de la enfermedad se define comúnmente inferior a los 45 años, caracterizada por

una base genética. Además de características motoras, una mayoría de los pacientes con EP también presentan una semiología no motora que implica numerosas alteraciones como trastornos del sueño, cambios en el estado de ánimo y afecto, disfunción autonómica, alucinosis, y síntomas sensoriales como la hiposmia. Algunos de estos síntomas pueden anticipar el inicio de los síntomas motores clásicos por años o incluso décadas. El examen patológico resalta la necesidad de pruebas de diagnóstico y biomarcadores para mejorar la confianza en el diagnóstico temprano, o para diagnosticar finalmente la EP en sus etapas prodrómicas. En las últimas décadas, el campo de la neuroimagen ha realizado cambios dramáticos y cada vez son más relevantes para la EP. Por ejemplo, la Tomografía Computarizada de Emisión Monofotónica (SPECT) está aprobada para su uso clínico de rutina y se puede utilizar para diferenciar entre la EP y las patologías que no están asociadas con una disfunción terminal nigroestriatal presináptica. La Resonancia Magnética Nuclear (RMN) ayuda a identificar el parkinsonismo sintomático y varias técnicas de resonancia magnética pueden revelar cambios específicos en los ganglios basales. Adicionalmente, una prueba diagnóstica indicativa consiste en la administración de levodopa (L-DOPA), que es el fármaco de elección en el tratamiento de la EP, y la observación durante 30 días de la evolución del paciente, considerándose positiva si el paciente responde al tratamiento. Sin embargo, a pesar de las técnicas y biomarcadores disponibles actualmente, el diagnóstico definitivo de la enfermedad sigue siendo exclusivamente *post-mortem* mediante la detección anatomopatológica de los cuerpos de Lewy en la vía nigroestriatal.

Desde el punto de vista **neuropatológico**, la EP se caracteriza por una pérdida progresiva de neuronas dopaminérgicas en la vía nigroestriatal como consecuencia principalmente de la acumulación generalizada y anómala de una proteína intracelular denominada  $\alpha$ -sinucleína (FIG 1). La  $\alpha$ -sinucleína es una proteína cuya forma normal es soluble, pero debido a un proceso patogénico o por el propio envejecimiento celular, los monómeros forman inicialmente oligómeros, y progresivamente se combinan para formar protofibrillas. A continuación, se dan lugar a fibrillas de  $\alpha$ -sinucleína insoluble, formando los previamente mencionados cuerpos de Lewy. En estadios tempranos de la enfermedad la pérdida de neuronas dopaminérgicas se limita a la sustancia nigra

ventrolateral, pero conforme la enfermedad evoluciona a estadios más avanzados, esta pérdida se generaliza<sup>2</sup>. Las alteraciones motoras que caracterizan a la EP se manifiestan cuando aproximadamente un 70% de las neuronas de la sustancia nigra han degenerado<sup>2</sup>.



**Figura 1. Principales hallazgos neuropatológicos en la EP.** (a) En el panel derecho se puede observar la despigmentación de la sustancia nigra (SN), comparado con el control (panel izquierdo). En los recuadros de fondo rosa (b-d), podemos apreciar secciones transversales del cerebro medio sobre una tinción de hematoxilina y eosina de la región ventrolateral de la SN para la tirosina hidroxilasa, enzima que limita la velocidad de síntesis de la dopamina; mostrando una distribución normal de neuronas pigmentadas en un control sano (b) y pérdida de células pigmentadas de diagnóstico moderado (c) o grave (d). La tinción inmunohistoquímica de  $\alpha$ -sinucleína muestra la forma redonda intracitoplasmática de los cuerpos de Lewy (flecha e) y depósitos granulares más difusos (f y g)<sup>2</sup>.

Actualmente se desconoce con exactitud la **etiología** de la EP, pero todo parece indicar que se debe a la combinación de factores genéticos, ambientales, el proceso oxidativo y el envejecimiento natural de la población. Se han identificado numerosas mutaciones específicas que pueden causar EP, sin embargo, éstas son poco frecuentes excepto cuando se encuentran casos de EP con antecedentes familiares o la enfermedad tenga un inicio temprano. En este segundo caso, cuando la enfermedad se manifiesta antes de los 50 años (es decir, con un inicio precoz), la herencia genética se hace más evidente. Entre las principales alteraciones genéticas involucradas en el inicio temprano de la EP se pueden destacar los siguientes genes que requieren especial atención: SNCA, PRKN, PINK1 o DJ1. El gen SNCA codifica la proteína  $\alpha$ -sinucleína, cuya implicación en el proceso neurodegenerativo de la EP aún no se comprende completamente, aunque se sabe que se produce en el citosol, posiblemente en mitocondrias y núcleo, teniendo un papel fundamental en la sinapsis. Algunas teorías apoyan que el aumento de la expresión o una mutación del gen SNCA es un elemento potenciador para la EP<sup>2</sup>. De hecho, la mutación en el gen SNCA causa la EP de inicio más temprano, antes de los 50 años de edad<sup>1</sup>. Los genes PRKN, PINK Y DJ1 son genes autosómicos recesivos que comparten un fenotipo similar y pertenecen a la misma vía celular. El gen PRKN (PARK 2) codifica para

una proteína denominada “parkina”, la cual es una ligasa de ubiquitina E3 encargada de marcar a ciertas proteínas para su correcta degradación. El gen PINK1 (PARK6) actúa en las mismas cascadas que la Parkina, para el mantenimiento de la calidad mitocondrial y además es una cinasa con una secuencia N-terminal que protege contra la disfunción mitocondrial y regula la morfología mitocondrial por la vía fisión/fusión. El gen DJ1 (PARK7) codifica para una proteína antioxidante y forma junto con “parkina” y PINK1, el complejo de ubiquitinación cuya función es degradar sustratos de parkina mal plegados. Estos genes están involucrados en la homeostasis mitocondrial y en la mitofagia, y las alteraciones de los mismos conducen a estrés celular y neurotoxicidad. Las mutaciones que afectan al gen PRKN son la causa más común de la EP temprana, casi el 50% del parkinsonismo típico de inicio alrededor de los 40 años<sup>1</sup>.

Por otro lado, como se ha comentado anteriormente, la genética puede ser un componente añadido a otros factores de riesgo como la exposición ambiental, el sexo, estrés, alimentación deficitaria, la senectud, etc., los cuales van a tener un papel imprescindible en el desarrollo tardío de la EP. Con estos determinantes implicados se han identificado dos genes de inicio tardío de la enfermedad: LRRK2 y GBA (ver Tabla 1). El gen LRRK2 codifica una proteína denominada “dardarin”, la cual está involucrada en los procesos de la regulación de autofagia y la vía lisosomal de la  $\alpha$ -sinucleína. Así pues, una mutación en este gen produce una acumulación de  $\alpha$ -sinucleína en fagosomas de las neuronas dopaminérgicas. Las mutaciones en este gen son la causa más frecuente de EP. Por otra parte, el GBA codifica para la glucocerebrosidasa A, encargada de degradar lípidos complejos, glucoesfingolípidos o glucocerebrósidos en los macrófagos. Alteraciones en GBA afectan de una manera variable a la actividad lisosomal y conduce a la acumulación de la  $\alpha$ -sinucleína. Es el factor de riesgo más común para la EP. Anteriormente era descrito como el gen causante de la enfermedad de Gaucher con herencia autosómica recesiva, sin embargo, los casos mostraron la presencia de los cuerpos de Lewy y numerosos pacientes con esta enfermedad presentaron parkinsonismo. Los heterocigotos para este gen confieren una mayor probabilidad de desarrollar EP, y los portadores presentan constantemente un deterioro cognitivo mucho más rápido<sup>1</sup>.



**Tabla 1. Genes asociados a la Enfermedad de Parkinson.** LC: cuerpos de Lewy, LN: neuritas de Lewy. En la siguiente tabla se pueden apreciar las características que presentan las mutaciones de cada gen. En el primer caso, la lectura nos lleva a la descripción de la mutación del gen SNCA que se encuentra asociado con un inicio temprano de la EP, que responde de manera adecuada al tratamiento con levodopa (L-DOPA), se corresponde con la aparición de demencia y tiene unas características neuropatológicas determinadas<sup>1</sup>.

GEN	INICIO DE LA ENFERMEDAD	RESPUESTA A LEVODOPA	CARACTERÍSTICAS	NEUROPATOLOGÍA
SNCA	Temprano	+	Demencia	LC, LN, pérdida de neuronas DA
PRKN	Temprano	+	-	Pocos LC y pérdida de neuronas DA
PINK1	Temprano	+	-	LC y pérdida de neuronas DA
DJ1	Temprano	+	-	LC y pérdida de neuronas
LRKK2	Tardío	+	Fenotipo poco severo	LC y pérdida de neuronas DA

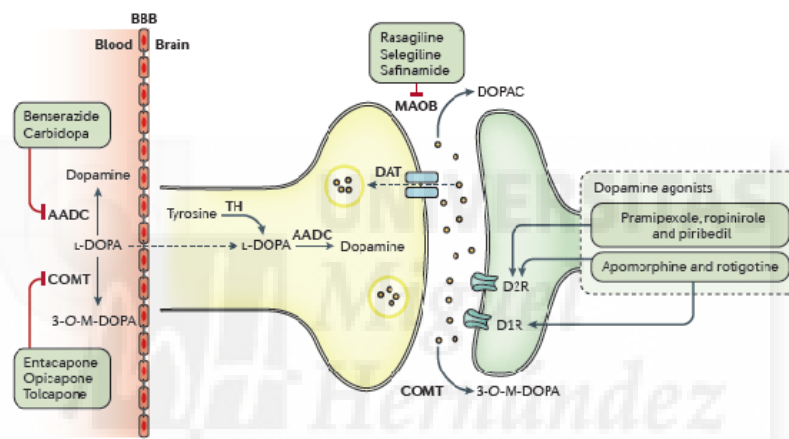
El **tratamiento** de la EP consiste principalmente en paliar la sintomatología motora de los pacientes e intentar mantener o prolongar la funcionalidad del enfermo durante el mayor tiempo posible. Actualmente, las estrategias terapéuticas pueden dividirse en: farmacológica, quirúrgica y basada en el ejercicio.

El tratamiento farmacológico de elección en la EP es la administración de L-Dopa que es el precursor de la dopamina, debido a que muchos de los síntomas característicos de la EP son debidos a la deficiencia de dopamina en la sustancia negra. Actualmente es el tratamiento más eficaz, y una gran mayoría de los pacientes con EP responden de forma adecuada a este fármaco. La estructura química de este compuesto le permite atravesar la barrera hematoencefálica y transformarse en dopamina (DA) gracias a la acción del enzima L-aminoácido descarboxilasa (AADC). La L-dopa mejora la bradicinesia, la rigidez y disminuye el temblor.

Las preparaciones de L-Dopa incluyen inhibidores de la AADC periférica como la carbidopa o benserazida, para prevenir el metabolismo periférico y

potenciar la biodisponibilidad de L-Dopa en el SNC. (FIG 2). Como consecuencia de la inhibición de AADC periférica, el metabolismo periférico de la L-Dopa se desplaza hacia una vía metabólica secundaria que involucra la orto-metilación de la L-Dopa a través de la catecol-O-metiltransferasa (COMT). La inhibición periférica de esta enzima mejora adicionalmente la biodisponibilidad y la vida media de la L-Dopa (FIG 2). Como inhibidores de la COMT encontramos la entacapona, utilizado muy comúnmente como estrategia terapéutica de primera línea en combinación con L-dopa y carbidopa.

Una vez liberada la dopamina en la brecha sináptica, la oxidación a través de la monoaminoxidasa tipo B (MAO-B) en las células gliales es un mecanismo de eliminación importante. Así pues, la inhibición de la MAO-B prolonga y aumenta



**Figura 2. Objetivos dopaminérgicos de la terapia farmacológica en la enfermedad de Parkinson <sup>2</sup>.**

las concentraciones sinápticas de dopamina. La selegilina y, más recientemente, la rasagilina, son inhibidores selectivos de la MAO-B que han demostrado eficacia antiparkinsoniana como complemento de la L-dopa en pacientes que presentan fluctuaciones motoras<sup>2</sup> (FIG 2).

Sin embargo, la administración a largo plazo de L-Dopa y sus combinaciones, va asociada con alteraciones motoras tardías (fenómenos de on-off, discinesias, etc.) a pesar de ser el tratamiento de primera línea. Este hecho dificulta notablemente el manejo prolongado del paciente con EP, y motiva a la búsqueda de otros enfoques farmacológicos.

Por otro lado, los agonistas dopaminérgicos son fármacos sintéticos que actúan directamente sobre los receptores dopaminérgicos postsinápticos,

preferentemente el receptor D2. Los fármacos derivados ergóticos como la bromocriptina, cabergolida, lisurida, y pergolida se convirtieron en medicamentos de segunda línea debido a sus potenciales efectos adversos, ya que también activan los receptores 5-hidroxitriptamina (5-HT) y éstos se asociaron con fibrosis valvular cardíaca, pleuropulmonar y retroperitoneal <sup>2, 3</sup>. El pramipexol (agonista D2, D3), ropinirol (agonista D2, D3, y D4), o la rotigotina (agonista D1, D2 y D3) no son derivados ergóticos y han sido clasificados como eficaces y clínicamente útiles frente a la EP.

La apomorfina, que es la más antigua dentro de su clase, actúa como agonista D1 y D2 y también se comporta como un antagonista de los receptores  $\alpha$ -adrenérgicos y 5-HT<sub>2</sub>. (FIG 2). La apomorfina es altamente lipófila y se absorbe rápidamente, pudiendo compararse la respuesta motora de una única dosis de apomorfina con el efecto de la L-Dopa. Además, posee una instauración más rápida y una duración media más elevada, que avala su utilidad en el rescate motor repentino e impredecible en los periodos *off*.

Si las estrategias orales mencionadas anteriormente no son suficientes para conseguir un buen manejo de las complicaciones motoras, se podría recurrir al empleo de otro tipo de intervenciones que se basan principalmente en mejorar los aspectos farmacocinéticos del tratamiento, consiguiendo una mayor estabilidad en los niveles plasmáticos de los fármacos empleados. Entre estas aproximaciones se incluye la apomorfina subcutánea de infusión continua, o la infusión continua yeyunal de LCIG (*Levodopa/Carbidopa Intestinal Gel*). La bomba de infusión continua de apomorfina se realiza mediante un tubo de calibre fino y una aguja, que se administra fundamentalmente a los muslos y estómago. Por otro lado, el preparado LCIG se infunde continuamente a través de la pared abdominal, y suele administrarse de manera diurna y frecuentemente con tratamiento adicional con agonistas dopaminérgicos e inhibidores de la COMT.

Asimismo, en casos refractarios a las intervenciones de tipo farmacológico, se recurre a procedimientos más invasivos que han demostrado una gran eficacia. Un ejemplo representativo sería la estimulación cerebral profunda (ECP), que se realiza implantando electrodos en determinadas regiones cerebrales implicadas en el control motor (ganglios basales) mediante un procedimiento quirúrgico. Estos electrodos suelen proveer una estimulación eléctrica de alta frecuencia (100-200 Hz) en el núcleo subtalámico o el globo

pálido interno, interfiriendo así en las señales que causan los síntomas motores incapacitantes de la EP. Cabe destacar que la mejora inducida por la ECP en pacientes con EP avanzada, está correlacionada con una respuesta adecuada al tratamiento previo con L-dopa. De hecho, pacientes con síntomas motores que no han respondido bien al tratamiento dopaminérgico, es poco probable que lo hagan a la ECP. Varios ensayos controlados aleatorios han demostrado que la ECP proporciona una mejor calidad de vida <sup>2, 3</sup>.

La terapia actual de la EP se basa en la administración de medicamentos dopaminérgicos, con efectos adversos significativos, en los que en un principio se observa una mejoría de los síntomas motores de la enfermedad. Sin embargo, con el progreso de la enfermedad se requerirán dosis más elevadas de los fármacos y con ello los efectos adversos de un tratamiento prolongado pueden ocasionar un impacto en la calidad de vida del paciente, como por ejemplo las alucinaciones. También se cree que los efectos adversos motores pueden ser debidos a la forma en que la dopamina alcanza el cuerpo estriado. A pesar de ello, se trata de un tratamiento efectivo en el inicio de la enfermedad, pero se trata de una terapia paliativa que trata de mejorar los síntomas de la EP, pero no presenta un objetivo etiológico que logre modificar el curso de la EP.

Por lo tanto, se hace evidente la necesidad de un tratamiento que pueda restaurar el tono dopaminérgico en el cuerpo estriado de una manera fisiológica y específica. Un enfoque alternativo son las terapias regenerativas que han desarrollado tratamientos basados en las células madre o en la terapia génica, que permite la manipulación de genes que codifican para sustancias implicadas en procesos de neurogénesis y neuroplasticidad.

En las últimas décadas, la terapia génica ha sufrido un gran avance. Se ha desarrollado como un método de aproximación para el tratamiento de enfermedades de etiología genética basado en la transferencia de material genético a las células del individuo. La finalidad de dicha transferencia es restablecer una función celular afectada, introducir una nueva función o bien interferir en una función preexistente. Así pues, las diferentes estrategias de la terapia génica se fundamentan en la combinación de tres componentes clave: el material genético a transferir, el método de transferencia (vehículo empleado) y el tipo celular que incorporará dicho material genético.

El presente trabajo trata de aportar información sobre la utilidad que un futuro podría tener la terapia génica en el tratamiento de la EP. Tanto desde un punto de vista de manejo sintomático mediante la manipulación de genes implicados en la producción o metabolización de dopamina, como mediante una aproximación más etiológica que pueda conseguir modificar el curso clínico de la patología, frenando o incluso deteniendo el proceso neurodegenerativo característico.



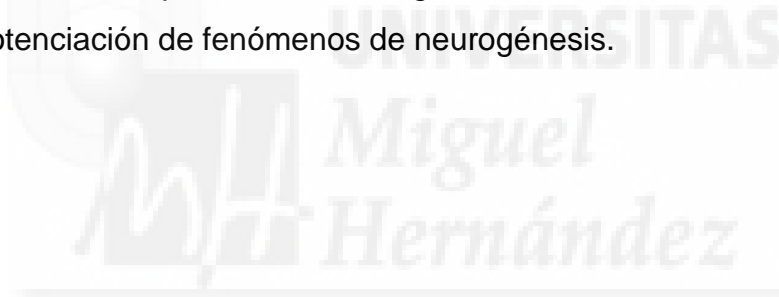
## 3. OBJETIVOS

### 3.1 Objetivo General

El objetivo principal de este trabajo es realizar una búsqueda bibliográfica para valorar la potencialidad de la terapia génica como tratamiento de la enfermedad de Parkinson.

### 3.2 Objetivos específicos

- Realizar una recopilación de las bases generales de la aplicación de la terapia génica en la EP, atendiendo a los procedimientos que se han ensayado tanto en modelos animales como en pacientes.
- Revisar los estudios que se han realizado con terapia génica dirigida a mejorar la sintomatología motora de la EP, a través de la potenciación de la neurotransmisión dopaminérgica.
- Revisar los estudios que se han realizado con terapia génica dirigida a modificar el proceso neurodegenerativo de la EP, a través de la potenciación de fenómenos de neurogénesis.



## 4. MATERIAL Y MÉTODOS

### 4.1 Diseño del trabajo

Se trata de una revisión bibliográfica en la que se revisa y analiza a través de una lectura crítica la información disponible en la literatura científica sobre las aplicaciones de la terapia génica en la EP.

### 4.2 Fuente de extracción de documentos

Los artículos revisados en este trabajo se obtuvieron de la búsqueda directa de la bibliografía científica mediante distintas bases de datos, a través de internet. Las bases de datos utilizadas fueron *MedLine* (vía *PubMed*) y *The Cochrane Library*, base de datos de referencia sobre medicina basada en la evidencia.

### 4.3 Metodología de búsqueda

Para realizar la búsqueda de documentos en las diferentes bases de datos, inicialmente se definieron los términos de búsqueda mediante palabras clave en forma de Medical Subject Headings (MeSH), para ello se consultó el *Thesaurus*, desarrollado por la *U.S National Library of Medicine*. Se consideró adecuado el uso de los siguientes descriptores:

DESCRIPTORES	DeCS	MeSH
Enfermedad de Parkinson	Enfermedad de Parkinson	Parkinson disease
Terapia Génica	Terapia Genética	Genetic Therapy

Así pues, en la ecuación de búsqueda se emplearon los términos Mesh: "Parkinson disease" y "Genetic Therapy". La ecuación de búsqueda se formuló utilizando el conector booleano AND, quedando de la siguiente forma: ("Genetic Therapy"[Mesh]) AND "Parkinson Disease"[Mesh].

La ecuación final resultante se desarrolló para su uso en la base de datos *MedLine*, vía *PubMed*, empleando el filtro temporal *Published in the last five years*.

La ecuación final de búsqueda fue la siguiente:

**("Genetic Therapy"[Mesh] AND "Parkinson Disease"[Mesh] Filters: published in the last 5 years.**

Esta estrategia se adaptó también a la base de datos *The Cochrane Library*, y ambas búsquedas se realizaron por última vez el 26 de marzo de 2019.

#### **4.4 Selección de documentos**

La selección de los artículos para su posterior estudio se realizó siguiendo y teniendo en cuenta unos criterios de selección con la finalidad de distinguir los artículos o documentos que aportaban información útil de aquellos que no poseían información relevante o deseada.

Los criterios de inclusión fueron:

- Los artículos escritos en inglés o castellano.
- Se aceptan revisiones bibliográficas y artículos originales.
- Aquellos artículos que tratasen únicamente sobre la terapia génica y sus aplicaciones en la enfermedad de Parkinson.

Se excluyeron los documentos que:

- Trataban otros aspectos relacionados con la terapia génica y sobre las aplicaciones de la terapia génica en otras enfermedades.
- No se podían consultar por no estar disponible la versión completa del texto a través del acceso personalizado de la UMH.
- Los artículos identificados como publicación duplicada.

El número de documentos se amplió examinando las referencias bibliográficas citadas en los artículos seleccionados inicialmente, con la finalidad de obtener un mayor volumen de información relevante.



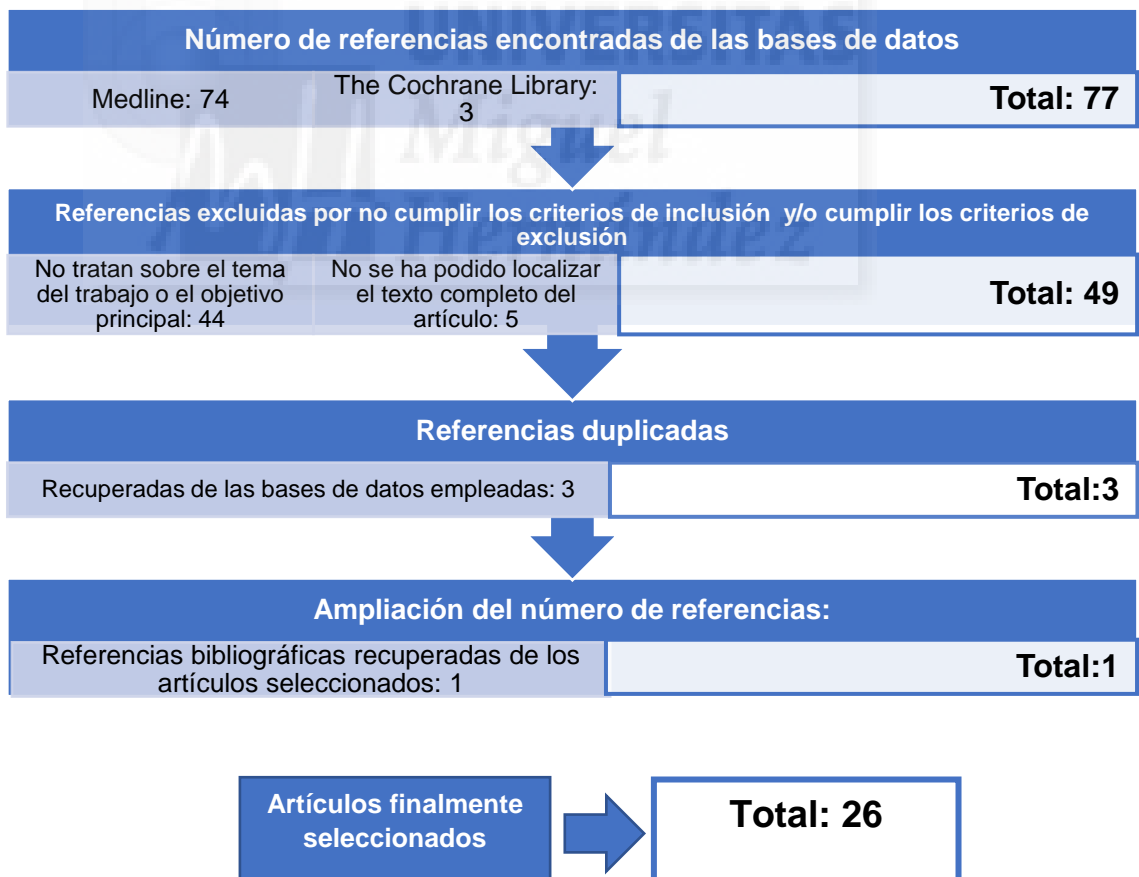
## 5. RESULTADOS

### 5.1 Resultados de la búsqueda

Después de aplicar los criterios de búsqueda y los filtros se obtuvieron un total de 77 referencias de las distintas bases de datos empleadas, de las cuales tres fueron excluidas por tratarse de publicaciones duplicadas y 48 por no cumplir los criterios de inclusión comentados anteriormente.

Por otro lado, de la revisión de las referencias bibliográficas de los artículos seleccionados se recuperó un artículo. Finalmente, fueron seleccionados 27 artículos para el análisis.

Así pues, se puede observar mediante el siguiente diagrama la metodología utilizada en la selección de documentos que finalmente se revisaron en este trabajo:



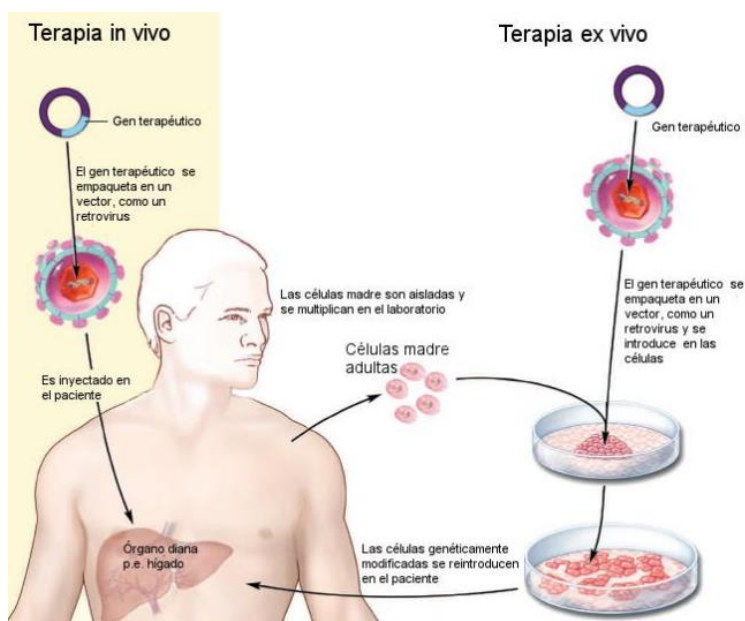
## 5.2 Análisis de los resultados

En este apartado se analiza la información recabada en relación a las aproximaciones que se emplean en la terapia génica dirigida a la EP. Además, también se evalúan los resultados obtenidos en los ensayos preclínicos y clínicos recopilados, cuyo objetivo se subdivide en la consecución de una mejora en la sintomatología o en lograr cambiar el curso de la enfermedad.

### 5.2.1 Generalidades de la terapia génica en la EP

#### I. Tipos de terapia génica:

La terapia génica clínica se puede clasificar en dos grandes categorías dependiendo de cómo se realice la manipulación genética de las células de interés. La primera opción se denomina “ex vivo”, en la que se realiza la modificación genética en un grupo de células que se encuentra en cultivo, y posteriormente los pacientes reciben dichas células modificadas genéticamente para que finalmente se implanten en la localización adecuada y expresen una o más proteínas deseadas. La segunda posibilidad se denomina “in vivo”, en la cual se inyecta local o sistémicamente el vector con la construcción genética para que se termine insertando directamente en las células del paciente y se integre el material genético con la modificación correspondiente. Este segundo caso es muy utilizado en los ensayos con humanos y para ello se emplean comúnmente vectores virales como se comentará más adelante. En la figura 3 se muestra una representación sobre el funcionamiento básico de ambas aproximaciones <sup>4-7</sup>(FIG 3).

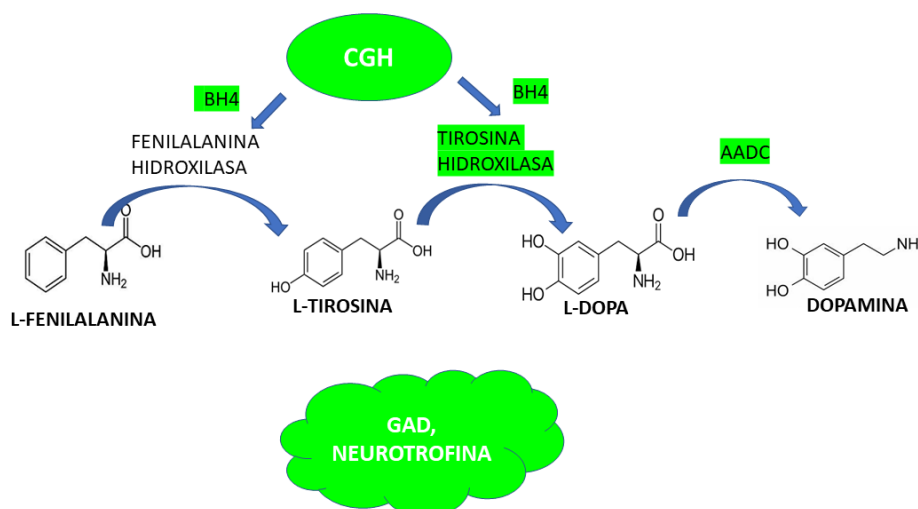


**Figura 3.** [Imagen representativa de las principales diferencias entre la terapia génica in vivo y ex vivo<sup>31</sup>.](#)

## II. Genes diana de la terapia génica en la EP:

La síntesis de dopamina cerebral requiere de la actividad de numerosas enzimas, pero las que limitan su velocidad de síntesis son dos: la tirosina hidroxilasa (TH) y la AADC (ver FIG 4). Así pues, para que la TH funcione adecuadamente necesita un cofactor enzimático esencial, la 5,6,7,8-tetrahidro-L-biopterina (BH4) cuya enzima limitante de la velocidad de síntesis es principalmente la GPT (guanosina trifosfato) ciclohidrolasa 1 (CGH1). Numerosos estudios han demostrado que la lesión en las neuronas dopaminérgicas se asocia con una pérdida significativa de la actividad de estas enzimas en el estriado, por lo que una aproximación terapéutica de gran interés sería el restablecimiento de su función. En este sentido, una de las estrategias que se han abordado mediante la terapia génica ha sido el incremento de la expresión de estas enzimas, principalmente en la vía nigroestriatal afectada.

Otras de las consecuencias de la EP es que en el núcleo subtalámico (NST) disminuyen los niveles de ácido gamma-aminobutírico (GABA), que constituye el principal neurotransmisor inhibitorio del sistema nervioso central (SNC). Esta alteración produce un estado de hiperactividad que se asocia con las alteraciones motoras características de la EP. Con el objetivo de mejorar el tono inhibitorio a nivel del NST se ha propuesto el aumento de expresión de la enzima ácido glutámico descarboxilasa (GAD), que media la metabolización de ácido glutámico (glutamato) a GABA.



**Figura 4.** Esquema del proceso enzimático de síntesis de dopamina. En verde podemos observar las dianas de la terapia génica como objetivo para el tratamiento de la EP. Imagen de elaboración propia.

El factor neurotrófico más ampliamente estudiado en la EP es el factor neurotrófico glial (GDNF), cuya función es proporcionar una mejora de la función neuronal y proteger contra la neurodegeneración. Por otro lado, la neurturina (NTN) es un factor neurotrófico estrechamente relacionado con el GDNF que ha demostrado proporcionar soporte trófico y protección de forma específica a las neuronas dopaminérgicas de la vía nigroestriatal. Por tanto, los genes que codifican para ambos factores neurotróficos constituyen una diana de gran interés, con el objetivo de incrementar su presencia y potenciar su efecto neuroprotector.

Así pues, conforme a los genes que se han resaltado por ser dianas en la terapia génica de la EP, se podrían definir dos tipos de estrategia que han sido utilizadas hasta el momento y que difieren claramente en sus objetivos terapéuticos. Por un lado, tendríamos la: **terapia génica sintomática**, destinada a mejorar principalmente la sintomatología motora. En esta aproximación se ha empleado la transferencia de genes implicados en la síntesis de la dopamina (CGH1, TH y AADC) o en la síntesis de GABA (GAD). Y, por otro lado, estaría la **terapia génica neurorestauradora** que se centra en modificar el curso de la enfermedad mediante la transferencia de genes que codifican para los dos factores neurotróficos previamente comentados (GDNF y NTN)<sup>8</sup>.

### ***III. Objetivos de la terapia génica en la EP***

Teniendo en cuenta los dos enfoques de la terapia génica descritos anteriormente, podemos describir los siguientes objetivos terapéuticos en la EP:

- Aumentar la dopamina local mediante las enzimas relacionadas con su síntesis.
- Proporcionar un efecto neuroprotector y proneurogénico que evite la neurodegeneración o incluso pueda dar lugar a nuevas neuronas que restablezcan la funcionalidad dopaminérgica en la vía nigroestriatal.
- Corregir la hiperexcitabilidad que se produce en el núcleo subtalámico para paliar la sintomatología motora asociada.

### ***IV. Modelos de vectores empleados***

Actualmente, los vectores más utilizados son los lentivirus (LV) y los virus adenoasociados (AAV). En el caso de los AAV, se tratan de parvovirus no

asociados a enfermedades humanas, por lo que son relativamente seguros. Se elimina la mayoría del genoma del virus para que no se integre en el genoma del huésped y con ello se consigue disminuir el riesgo de las reacciones inmunes secundarias y la mutagénesis de inserción. Debido a estas ventajas, los vectores AAV son los más comúnmente utilizados en la terapia génica. Sin embargo, tienen como limitación principal la restricción del tamaño de las construcciones en las que se pueden integrar los genes de interés.

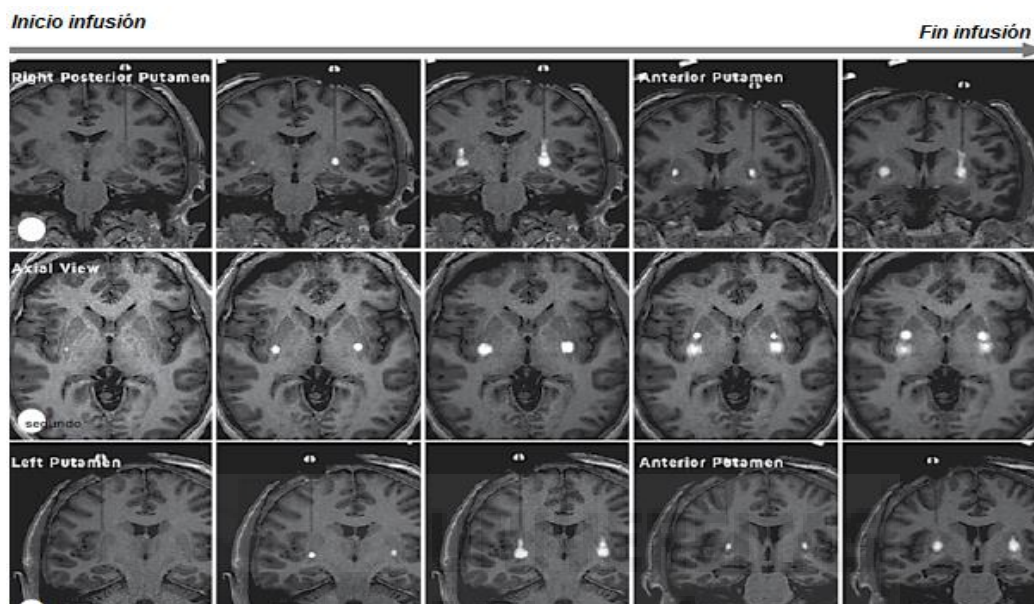
Por otro lado, los vectores LV pueden transferir construcciones de genes más grandes y se produce la inserción de la construcción genética en el genoma del huésped, que permite una expresión génica superior y mantenida. Sin embargo, actualmente la mayoría de los vectores LV proceden del VIH, pudiendo producirse infecciones por recombinación. Uno de los desafíos de la terapia génica es la dosis óptima del LV en el sitio de destino, dado que los LV están limitados por la producción actual de procesos de síntesis y el volumen de vector que se puede administrar en el cuerpo estriado humano. Por ello, la optimización de la expresión del transgén terapéutico es crítico<sup>4, 8-10</sup>.

Uno de los principales problemas en cuanto al empleo de los vectores virales es la penetración de estos agentes a través de la barrera hematoencefálica, ya que ninguno de estos dos virus es capaz de cruzarla, por ello este tratamiento requiere de cirugía estereotáctica para acceder directamente a las regiones cerebrales de interés, como se comentará en el siguiente apartado.

#### **V. Método de administración**

La administración de vectores en la terapia génica se fundamenta en la **cirugía estereotáctica o estereotóxica**. Se trata de una intervención quirúrgica mínimamente invasiva que emplea un sistema de coordenadas tridimensional para ubicar pequeñas estructuras dentro del cerebro. Requiere la colocación de una estructura externa que se fija a la cabeza del paciente y constituye un marco de referencia para fijar las coordenadas que se deseen. Permite realizar diferentes acciones como obtener una biopsia, inducir una lesión, realizar la administración de una sustancia, estimular un núcleo cerebral determinado, o implantar un dispositivo, entre otros.

Actualmente se emplea la imagen por resonancia magnética a tiempo real (IRM) para guiar la cirugía estereotáxica. De esta forma, se puede monitorizar y verificar de manera intraoperatoria la localización exacta en la que se desea realizar la infusión, a través de la administración de un contraste<sup>8</sup> (FIG 5).



**Figura 5. Ejemplo de infusión guiada por IRM de AAV2-AAVC.** Imágenes de cortes cerebrales (coronales y axiales), que muestran las infusiones en el hemisferio izquierdo<sup>8</sup>.

## VI. Investigación preclínica en la EP

Los modelos animales de la EP que tradicionalmente se han utilizado en investigación se generan mediante la administración intracerebral o sistémica de neurotoxinas, con el objetivo de producir un daño en las neuronas dopaminérgicas de la vía nigroestriatal, simulando parcialmente las alteraciones neuropatológicas y motoras de la EP. El efecto que se persigue y obtiene es la degeneración de neuronas dopaminérgicas, principalmente en la sustancia negra o el estriado (dependiendo del modelo animal empleado). Los animales que guardan una mayor homología y con los que se consigue una mayor capacidad traslacional hacia la clínica son los primates no humanos (NHP). Sin embargo, los más empleados son los roedores (rata o ratón) principalmente por razones éticas y por las ventajas que confiere la manipulación de estas especies. A pesar de ello, existen claras diferencias entre el cerebro humano y el de los roedores entre las que cabría destacar la diferencia de tamaño (aproximadamente 20 veces menor en el roedor), de metabolismo cerebral y flujo

sanguíneo (aumentados en los roedores), y a nivel electrofisiológico y neuroquímico<sup>8</sup>.

Las neurotoxinas más empleadas para inducir un modelo animal de la EP son la 6-hidroxidopamina (6-OHDA) y el 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina (MPTP). La 6-OHDA es un análogo de la dopamina y la lesión neuronal que induce logra reproducir parcialmente las características neuropatológicas y las alteraciones motoras de la EP en animales. En la década de los años 80 se descubrió de forma fortuita el MPTP, debido a la adulteración de heroína fruto de un defecto en su proceso de síntesis, que parkinsonizó a varios pacientes adictos en EEUU. El MPTP lesiona de forma selectiva neuronas dopaminérgicas, induciendo parkinsonismo crónico después de su administración sistémica. Durante muchos años, el modelo de lesión MPTP, en particular cuando se desarrolló en NHP, ha sido considerado como el modelo animal más predictivo de la EP. Sin embargo, mientras los cambios patológicos y bioquímicos producidos por la neurotoxina son bastante similares a los observados en pacientes con EP, el modelo no es capaz de reproducir algunas de las características histopatológicas características de EP, como la presencia de los cuerpos de Lewy<sup>8</sup>.

De forma general, cabe destacar que la naturaleza de la pérdida celular inducida en estos modelos neurotóxicos (6-OHDA y MPTP) no puede reproducir la típica degeneración progresiva estudiada en pacientes con la EP. Esta circunstancia supone una limitación importante especialmente para su utilización en modelos preclínicos orientados a evaluar estrategias neuroprotectoras. Por ello, de forma muy reciente se han empezado a utilizar otros modelos con los que se tiene menos experiencia, pero que tratan de imitar en mayor medida el proceso neurodegenerativo lento de la EP.

### **5.2.2 Terapia génica enfocada a mejorar la sintomatología de la EP**

Como se ha comentado anteriormente, las estrategias para mejorar la sintomatología de la EP se centran en el incremento local de DA y disminuir la hiperexcitabilidad del sistema nervioso central (SNC). Para ello, se utilizan como dianas terapéuticas los genes de las enzimas que intervienen en el proceso de

síntesis de la DA y el precursor GABA: GAD. A continuación, se exponen los distintos estudios preclínicos y clínicos llevados a cabo.

### **I. L-Aminoácido aromático descarboxilasa (AADC)**

En la EP avanzada, la actividad de la AADC se reduce como resultado de la pérdida de neuronas nigroestriatales, lo que reduce el nivel de la DA endógena. Como consecuencia de estos menores niveles de DA, los pacientes necesitan dosis más elevadas de L-Dopa. No obstante, dosis crecientes de L-Dopa no pueden proporcionar el mismo beneficio terapéutico y, a menudo, conlleva la aparición de reacciones adversas como discinesias y fluctuaciones motoras severas. Por ello, a través de la terapia génica *in vivo* mediante la construcción genética que integra el gen que codifica para AADC en un vector adenovírico (AAV2-AADC), se puede incrementar la síntesis de DA y la eficacia del tratamiento con L-Dopa. Esto conlleva una reducción de la dosis de L-Dopa que puede conducir a un alivio de los efectos secundarios asociados y un mayor beneficio terapéutico <sup>4,8</sup>.

Múltiples estudios preclínicos demostraron que la administración del vector AAV2-AADC a primates lesionados con MPTP produjo mejoras a largo plazo. Las necesidades de L-Dopa disminuyeron de manera significativa y con ello los efectos secundarios. Adicionalmente, se demostró que el vector se continuó expresando durante los 9 años posteriores mediante la fluoro-metro-tirosina (FMT), que es marcador de actividad de la AADC para la captación de imágenes mediante tomografía de emisión de positrones (PET) <sup>4,8,11</sup>.

El primer ensayo de seguridad de fase I humana consistió en cinco pacientes con EP de moderada a avanzada, en el que se les inyectó una dosis baja del vector AAV2-AADC en el núcleo putamen. Los resultados mostraron una respuesta moderada. Sin embargo, la ausencia de un grupo control y el análisis no ciego dificultan la interpretación. Los datos iniciales demostraron la seguridad y tolerabilidad de la terapia a dosis bajas<sup>4,8</sup>.

En el siguiente ensayo, 10 pacientes con EP moderadamente avanzada recibieron el tratamiento intraputaminal. Cinco de ellos a una dosis baja y



los cinco restantes a dosis altas. Las escalas de evaluación clínica estandarizadas se utilizaron para medir el estado clínico al inicio del estudio y a los seis meses de seguimiento. La terapia fue bien tolerada en esta cohorte, y sólo la intervención quirúrgica muestra una posible asociación con un mayor riesgo de hemorragia intracraneal y dolor de cabeza. Los efectos adversos más comunes fueron molestias en la zona de la cirugía y el dolor de cabeza. A los seis meses los resultados de imagen mediante FMT mostraron una mejora en los pacientes con dosis altas en comparación con la cohorte de dosis más baja (75% vs 30%)<sup>4</sup>. La cantidad de medicación dopaminérgica se redujo en 8 pacientes (5 en pacientes de dosis altas y 3 en el grupo de dosis baja). Actualmente, se encuentra en curso un nuevo ensayo clínico de fase I utilizando la RMN a tiempo real mientras se administra el vector viral (ClinicalTrials.gov: [NCT01973543](https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT01973543)).

## II. **Tirosina hidroxilasa (TH)**

Otra estrategia empleada consiste en aumentar no solamente los niveles de DA en el cuerpo estriado (mediante un incremento de la actividad de la AADC), sino también aumentar aún más la biodisponibilidad endógena de la L-Dopa, aumentando la actividad de la TH (ver figura 3). Para ello, Oxford Biomedical, bajo el nombre de ProSavin®, ha construido un vector utilizando el virus de la anemia perniciosa equino (VAIE) a base de lentivirus (LV), cuya estructura codifica TH, AADC y CGH1<sup>4, 8-10</sup>. Los primeros resultados con un modelo MPTP tratado con una inyección estriatal del LV mostraron que el tratamiento fue seguro y eficaz. Posteriormente, se realizó un ensayo clínico abierto de fase I en el que tras un año de seguimiento después de la inyección en el putamen, se registraron 54 casos de efectos adversos leves o moderados. La inyección del vector era bien tolerada y mostraban mejoras respecto a las evaluaciones motoras. No obstante, debido a la naturaleza abierta del estudio la eficacia clínica no podría ser definitivamente comprobada. A pesar de los resultados, los pacientes continuaron requiriendo una dosis diaria de L-Dopa oral para lograr el máximo beneficio. Este ensayo de

seguridad, eficacia y tolerabilidad se ha prolongado durante 10 años con la finalidad de proporcionar más datos acerca de esta terapia (Clinicaltrials.gov: [NCT01856439](https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT01856439)), en el que las preparaciones se han iniciado para optimizar la dosis efectiva para un ensayo aleatorio y controlado con placebo.

### III. **Ácido glutámico descarboxilasa (GAD)**

Una estrategia diferente en la terapia génica aplicada a la EP consiste en aumentar la producción de GABA en el NST induciendo la actividad de la enzima GAD responsable de sus síntesis. Este enfoque ofrece una alternativa probablemente más segura y menos invasiva a la ECP del NST<sup>5, 12, 13</sup>.

Se realizaron ensayos de fase I y fase II empleando una construcción genética que incluía el gen que codifica para GAD insertada en un AAV (AAV2-GAD), y el vector se inyectó directamente en el NST de los pacientes que se incluyeron en el estudio. En el ensayo de fase I se involucraron 12 pacientes que recibieron una infusión en el NST del hemisferio más afectado, en dos grupos de dosificación diferentes:  $3 \cdot 10^{11}$  y  $1 \cdot 10^{12}$  vg/ml. Los pacientes mostraron mejoras hasta doce meses después de la infusión. Las exploraciones mediante PET confirmaron la eficacia de la transferencia de genes, ya que había una disminución en la actividad funcional del NST<sup>8</sup>. En el ensayo de fase II, se incluyeron 16 sujetos que recibieron las infusiones de AAV2-GAD ( $1 \cdot 10^{12}$  vg/ml) y se evaluaron después de 6 meses. Los pacientes presentaron mejoras en sus síntomas motores<sup>8</sup>.

A pesar de los estudios realizados, los resultados obtenidos mediante esta técnica no fueron muy alentadores, ya que la mejora motora en el grupo AAV-GAD fue equiparable a la obtenida en pacientes tratados con ECP<sup>8</sup>,  
14.

### 5.2.3 Terapia génica dirigida a modificar el curso de la EP

#### I. Factor neurotrófico derivado de la glía (GDNF) y neurturina (NTN)

En estudios realizados en modelos animales de la EP, se ha demostrado la seguridad y eficacia de la inyección directa de la construcción AAVW-GDNF que aumenta la expresión del factor GDNF. Se ha constatado una reducción de la muerte de neuronas dopaminérgicas nigroestriatales y un aumento de la neuroplasticidad. De hecho, los resultados obtenidos en modelos de la EP que emplean primates, sugieren que los efectos del tratamiento con AAV2-GDNF podría mejorar la plasticidad en aquellas regiones y circuitos con hipofuncionalidad dopaminérgica, así como mejorar los déficits conductuales (principalmente motores) inducidos por la lesión.

En un ensayo clínico de fase I, 12 pacientes fueron tratados con la inyección intraputamina de AAV2-NTN con el objetivo de aumentar la expresión de la neurotrofina NTN. Se emplearon dos niveles de dosis y no se observaron efectos adversos graves destacados, concluyendo que el tratamiento fue seguro y bien tolerado. Tras un año se alcanzó una mejoría motora significativa (36% en las puntuaciones de UPDRS), al mismo tiempo que las imágenes de PET obtenidas con el marcador fluoro-Dopa no mostraron un aumento significativo en el número de terminaciones nerviosas dopaminérgicas, lo cual resulta bastante significativo ya que no hubo un efecto proneurogénico, sino más bien neuroprotector<sup>4, 15, 16</sup>.

Otro ensayo clínico aleatorizado, doble ciego y controlado con cirugía simulada, se valoraron los efectos de la administración de la construcción AAV-NTN en 58 pacientes. Se detectaron reacciones adversas graves en 13 de los 38 pacientes del grupo tratado y en 4 de los 20 incluidos en la cohorte de cirugía simulada. Tres pacientes del primer grupo presentaron un glioblastoma, un adenocarcinoma de esófago y un adenocarcinoma de la próstata, respectivamente; y dos del segundo grupo desarrollaron un tumor de la glándula parótida y un adenocarcinoma de la glándula apocrina. Los ensayos de PCR fueron negativos para AAV2-NTN en cada ocasión. En el caso del glioblastoma la investigación reveló que había

estado presente antes de la entrada en el estudio, por estas razones se cree que los tumores no se encuentran relacionados con el tratamiento de AAV2-NTN. Dos pacientes del grupo tratado murieron (uno de infarto de miocardio a los 47 días y uno de embolia pulmonar a las 91 día tras la operación). Los pacientes que recibieron el tratamiento no alcanzaron una mejoría motora significativa al final del primer año de tratamiento. No obstante, el estudio plantea la posibilidad de que el beneficio pueda ser alcanzado por periodos de seguimiento más largos<sup>4</sup>.

Asimismo, se realizó otro ensayo clínico doble ciego para evaluar el efecto de AAV2-NTN administrado en el putamen de pacientes con EP avanzada. Se trataba de un estudio multicéntrico de 15 a 24 meses de seguimiento y su control era la cirugía simulada frente a la administración de la construcción AAV2-NTN. En este estudio se incluyeron a 51 pacientes que fueron divididos de la siguiente manera al azar: 24 fueron asignados a la administración de AAV2-NTN y 27 a cirugía simulada. No se observó ningún beneficio significativo de la terapia AAV2-NTN en comparación con el grupo control. El procedimiento fue bien tolerado, y no hubo acontecimientos adversos clínicamente significativos atribuidos a la terapia. El estudio proporciona evidencia adicional para la seguridad de la terapia génica mediante la cirugía estereotáctica<sup>17</sup>.

Actualmente, en un nuevo estudio abierto (ClinicalTrials.gov: [NCT01621581](https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT01621581)) con escalada de dosis, en pacientes con EP avanzada, se analizó la seguridad, tolerabilidad y eficacia del tratamiento en 4 dosis. Los estudios recientes sugieren que este enfoque terapéutico puede ser eficaz solo en la EP relativamente leve y que esto podría explicar los resultados negativos de los ensayos clínicos hasta la fecha<sup>18</sup>.

## 6. DISCUSIÓN

El manejo terapéutico de los pacientes con EP supone un reto para los clínicos. Mientras que el tratamiento más eficaz y empleado sigue siendo la utilización de L-Dopa, la terapia a largo plazo con este fármaco puede inducir complicaciones motoras, tales como las discinesias tardías o las fluctuaciones motoras (períodos *on-off*). Otra brecha terapéutica importante es la ausencia de agentes modificadores de la enfermedad, dado que en la actualidad no se dispone de ningún fármaco neuroprotector autorizado que pueda detener el proceso neurodegenerativo de la EP. Entre los nuevos enfoques terapéuticos que se han empezado a estudiar, la terapia génica ha suscitado un interés creciente en los últimos años, que ha motivado la realización de este trabajo de revisión.

Todavía es muy pronto para saber la posible aplicación de la terapia génica en la práctica clínica, y qué lugar ocuparía dentro de las estrategias de tratamiento de la EP. Sin embargo, la información de la que disponemos actualmente ya nos permite identificar sus principales ventajas e inconvenientes, que a buen seguro podrán guiar su futura optimización. Las ventajas más importantes incluyen el hecho de poder ejercer tanto efectos modificadores de la enfermedad como de mejora de la sintomatología a largo plazo, gracias a la integración del material genético de interés en el genoma de las neuronas afectadas. Por tanto, resulta muy atractivo poder conseguir que el aumento de la funcionalidad dopaminérgica o la mayor producción de factores neurotróficos pueda tener lugar de manera constante, incluso sin necesidad de re-administrar una determinada construcción genética. Sin embargo, también existen actualmente inconvenientes que de momento limitan la aplicación de la terapia génica. Entre éstos, la completa seguridad de las construcciones que se realizan con vectores víricos, a pesar de que los resultados hasta la fecha son alentadores en este sentido, así como la especificidad y duración que se consiga con la transfección del material genético.

El enfoque sintomático de la terapia génica se ha centrado en incrementar en última instancia la síntesis de dopamina, aumentando la expresión de aquellas enzimas implicadas en el proceso (AADC, TH, GCH). Además, también tiene como objetivo conseguir la normalización funcional de los circuitos de los

ganglios basales por la modulación del tono GABAérgico inhibitorio a nivel del NST, aumentando la expresión de la enzima GAD. Esta estrategia terapéutica ha tenido resultados positivos, en la que los pacientes se han visto beneficiados de una disminución leve o moderada de los síntomas motores y una reducción de su pauta posológica. Sin embargo, estos síntomas no remitieron y este enfoque tampoco resuelve los problemas adicionales a la hipofunción dopaminérgica de la EP, así como tampoco la progresión de la enfermedad. Por lo tanto, esta terapia sintomática podría ser utilizada como coadyuvante del tratamiento farmacológico que habitualmente se emplea en la EP.

El otro enfoque que se ha explorado en los últimos años es el modificador de la enfermedad, cuyo objetivo principal es la detención de la progresión de la EP, la restauración de la función neuronal y el aumento de los terminales dopaminérgicos. Para ello, se han realizado varios ensayos en los que se aumentó la expresión de los factores neurotróficos GDNF y NTN. En este caso, los estudios realizados hasta el momento no han mostrado resultados significativos, dado que la mejora clínica obtenida ha sido mínima.

Los resultados de la terapia génica descrita anteriormente se dirigen principalmente al cuerpo estriado, la sustancia negra y el NST mediante cirugía estereotáxica de una forma segura y bien tolerada. Sin embargo, persisten grandes desafíos para el futuro, surgiendo preguntas relevantes como la forma en la que podemos controlar y modular la expresión génica de un gen determinado y en una población celular concreta de forma segura, o la dosis y pauta a emplear dependiendo del estadio de la EP y las características clínicas de cada paciente. Asimismo, el uso de esta terapia conforme a la metodología actual implica riesgos y efectos secundarios, atribuidos en gran parte al procedimiento de cirugía estereotáxica que resulta invasivo para el paciente. Por otro lado, los vectores virales utilizados actualmente son incapaces de penetrar la barrera hematoencefálica, y por lo tanto se requieren esfuerzos para desarrollar estrategias que no necesiten cirugía. Quizás en un futuro se pueda lograr dirigir adecuadamente el vector que contenga el material genético de interés hacia las neuronas que se ven afectadas en la EP, de tal manera que pueda ser suficiente con una administración sistémica. Adicionalmente, la inmunogenicidad y carcinogenicidad también se encuentran entre los principales

riesgos de esta terapia. Otros inconvenientes de los vectores virales incluyen su baja especificidad por las células diana, el tamaño limitado de los genes que pueden ser transferidos, y el elevado coste de su preparación. Así pues, otras estrategias (vectores no virales, nanotransportadores, etc.) podrían ser alternativas potenciales a los vectores virales para conseguir una mayor eficacia y seguridad en la terapia génica.

Otra de las limitaciones que presentan los estudios realizados hasta el momento, es el estadio avanzado de la EP de los sujetos incluidos en los ensayos clínicos. Todo ello nos hace pensar que a pesar del intento de modificar la expresión génica del paciente, una vez sobrepasada la pérdida de una gran cantidad de neuronas (aproximadamente el 70% de éstas cuando se comienzan a presentar los síntomas motores de la EP), se limita de forma significativa la probabilidad de mejorar, ralentizar o remitir la progresión de la enfermedad. De hecho, esta es una de las posibles causas que explicarían los malos resultados obtenidos hasta ahora con la estrategia modificadora de la enfermedad. Por tanto, se hace evidente la necesidad conjunta de un diagnóstico precoz de la EP mediante la identificación paralela de nuevos biomarcadores diagnósticos con una adecuada sensibilidad y especificidad. De esta forma, el abordaje neuroprotector tendría más opciones para conseguir modificar el curso clínico de la EP, llegando incluso a la recuperación de las neuronas levemente dañadas en un escenario aún todavía lejano e hipotético

## 7. CONCLUSIÓN

Actualmente, los resultados obtenidos de la terapia génica como tratamiento de la EP evidencian que es un proceso seguro, bien tolerado por los pacientes y con mejoras sintomáticas significativas. No obstante, se trata de una técnica muy innovadora y que requiere de tiempo y de investigación para su optimización.





## 8. REFERENCIAS

1. Lunati A, Lesage S, Brice A. The genetic landscape of Parkinson's disease. *Rev Neurol (Paris)*. 2018;174(9):628-43.
2. Poewe W, Seppi K, Tanner CM, Halliday GM, Brundin P, Volkman J, et al. Parkinson disease. *Nat Rev Dis Primers*. 2017;3:17013.
3. Fabbri M, Rosa MM, Ferreira JJ. Adjunctive Therapies in Parkinson's Disease: How to Choose the Best Treatment Strategy Approach. *Drugs Aging*. 2018;35(12):1041-54.
4. Majlath Z, Torok N, Toldi J, Vecsei L. Promising therapeutic agents for the treatment of Parkinson's disease. *Expert Opin Biol Ther*. 2016;16(6):787-99.
5. Yasuhara T, Kameda M, Agari T, Date I. Regenerative medicine for Parkinson's disease. *Neurol Med Chir (Tokyo)*. 2015;55(2):113-23.
6. Piguet F, Alves S, Cartier N. Clinical Gene Therapy for Neurodegenerative Diseases: Past, Present, and Future. *Hum Gene Ther*. 2017;28(11):988-1003.
7. Brown N, Song L, Kollu NR, Hirsch ML. Adeno-Associated Virus Vectors and Stem Cells: Friends or Foes? *Hum Gene Ther*. 2017;28(6):450-63.
8. Sudhakar V, Richardson RM. Gene Therapy for Parkinson's Disease. *Prog Neurol Surg*. 2018;33:253-64.
9. Stewart HJ, Ralph GS, Fong-Wong L, Strickland I, McCloskey L, Barnes L, et al. Optimizing Transgene Configuration and Protein Fusions to Maximize Dopamine Production for the Gene Therapy of Parkinson's Disease. *Hum Gene Ther Clin Dev*. 2016;27(3):100-10.
10. Choong CJ, Baba K, Mochizuki H. Gene therapy for neurological disorders. *Expert Opin Biol Ther*. 2016;16(2):143-59.
11. Ciesielska A, Samaranch L, San Sebastian W, Dickson DW, Goldman S, Forsayeth J, et al. Depletion of AADC activity in caudate nucleus and putamen of Parkinson's disease patients; implications for ongoing AAV2-AADC gene therapy trial. *PLoS One*. 2017;12(2):e0169965.
12. Ko JH, Feigin A, Mattis PJ, Tang CC, Ma Y, Dhawan V, et al. Network modulation following sham surgery in Parkinson's disease. *J Clin Invest*. 2014;124(8):3656-66.

13. Aron Badin R, Vadori M, Cozzi E, Hantraye P. Translational research for Parkinson's disease: The value of pre-clinical primate models. *Eur J Pharmacol.* 2015;759:118-26.
14. Remy P. Biotherapies for Parkinson disease. *Rev Neurol (Paris).* 2014;170(12):763-9.
15. Domanskyi A, Saarma M, Airavaara M. Prospects of Neurotrophic Factors for Parkinson's Disease: Comparison of Protein and Gene Therapy. *Hum Gene Ther.* 2015;26(8):550-9.
16. Janelidze S, Nordstrom U, Kugler S, Brundin P. Pre-existing immunity to adeno-associated virus (AAV)2 limits transgene expression following intracerebral AAV2-based gene delivery in a 6-hydroxydopamine model of Parkinson's disease. *J Gene Med.* 2014;16(9-10):300-8.
17. Warren Olanow C, Bartus RT, Baumann TL, Factor S, Boulis N, Stacy M, et al. Gene delivery of neurturin to putamen and substantia nigra in Parkinson disease: A double-blind, randomized, controlled trial. *Ann Neurol.* 2015;78(2):248-57.
18. Marks WJ, Jr., Baumann TL, Bartus RT. Long-Term Safety of Patients with Parkinson's Disease Receiving rAAV2-Neurturin (CERE-120) Gene Transfer. *Hum Gene Ther.* 2016;27(7):522-7.
19. Cederfjall E, Broom L, Kirik D. Controlled Striatal DOPA Production From a Gene Delivery System in a Rodent Model of Parkinson's Disease. *Mol Ther.* 2015;23(5):896-906.
20. Fischer DL, Gombash SE, Kemp CJ, Manfredsson FP, Polinski NK, Duffy MF, et al. Viral Vector-Based Modeling of Neurodegenerative Disorders: Parkinson's Disease. *Methods Mol Biol.* 2016;1382:367-82.
21. Deverman BE, Ravina BM, Bankiewicz KS, Paul SM, Sah DWY. Gene therapy for neurological disorders: progress and prospects. *Nat Rev Drug Discov.* 2018;17(10):767.
22. Koprach JB, Johnston TH, Reyes G, Omana V, Brotchie JM. Towards a Non-Human Primate Model of Alpha-Synucleinopathy for Development of Therapeutics for Parkinson's Disease: Optimization of AAV1/2 Delivery

Parameters to Drive Sustained Expression of Alpha Synuclein and Dopaminergic Degeneration in Macaque. PLoS One. 2016;11(11):e0167235.

23. Lewis TB, Glasgow JN, Harms AS, Standaert DG, Curiel DT. Fiber-modified adenovirus for central nervous system Parkinson's disease gene therapy. Viruses. 2014;6(8):3293-310.

24. Lu-Nguyen NB, Broadstock M, Schliesser MG, Bartholomae CC, von Kalle C, Schmidt M, et al. Transgenic expression of human glial cell line-derived neurotrophic factor from integration-deficient lentiviral vectors is neuroprotective in a rodent model of Parkinson's disease. Hum Gene Ther. 2014;25(7):631-41

25. Oh SM, Chang MY, Song JJ, Rhee YH, Joe EH, Lee HS, et al. Combined Nurr1 and Foxa2 roles in the therapy of Parkinson's disease. EMBO Mol Med. 2015;7(5):510-25.

26. Pires AO, Teixeira FG, Mendes-Pinheiro B, Serra SC, Sousa N, Salgado AJ. Old and new challenges in Parkinson's disease therapeutics. Prog Neurobiol. 2017;156:69-89.

27. Singh A, Sen D. Therapeutic Value of Adeno Associated Virus as a Gene Therapy Vector for Parkinson's Disease - A Focused Review. Curr Gene Ther. 2016;16(4):278-86.

28. Stoker TB, Barker RA. Regenerative Therapies for Parkinson's Disease: An Update. BioDrugs. 2018;32(4):357-66.

29. Delamarre A, Meissner WG. Epidemiology, environmental risk factors and genetics of Parkinson's disease. Presse Med. 2017;46(2 Pt 1):175-81.

30. Dickson DW. Neuropathology of Parkinson disease. Parkinsonism Relat Disord. 2018;46 Suppl 1:S30-S3.

31. Terapia génica – CMC\_A\_Machado[internet]. [citado 29 Mayo 2019]. Disponible en: <https://sites.google.com/site/cmcmfbenavente/4-de-los-transplantes-a-las-celulas-madre/terapia-gnica>