

Aplicaciones de terapias de reemplazo celular al tratamiento de enfermedades poliglutamínicas

Applications of cell replacement therapies to the treatment of poly-glutamine diseases

Luis Enrique Almaguer Mederos, Dany Cuello Almarales, Dennis Almaguer Gotay, Raúl Aguilera Rodríguez

Centro para la Investigación y Rehabilitación de Ataxias Hereditarias. Holguín, Cuba.

RESUMEN

Se realizó una revisión de la literatura especializada con el objetivo de evaluar el estado del arte en cuanto a la aplicación de terapias de reemplazo celular en enfermedades poliglutamínicas. Se consultaron las bases de datos HighWire y PubMed, con el uso de descriptores y operadores booleanos. Se recuperaron 84 artículos sobre la temática, publicados en revistas con un factor de impacto promedio de 5,42. Se discuten los estudios experimentales y pre-clínicos realizados con relación a terapias de reemplazo celular en enfermedades poliglutamínicas. Se demuestra la efectividad del uso de células madre de distintas fuentes en el mejoramiento de la función motora en modelos experimentales de enfermedades poliglutamínicas. Se revela la necesidad de realizar estudios multicéntricos a mediano y largo plazos, para la evaluación de los efectos terapéuticos de las terapias de reemplazo celular en enfermedades poliglutamínicas.

Palabras clave: células madre mesenquimales; enfermedades poliglutamínicas; modelos experimentales; terapias de reemplazo célula.

ABSTRACT

A review of the specialized literature was carried out with the aim of evaluating the state of the art regarding the application of cell replacement therapies in polyglutamine diseases. The HighWire and PubMed databases were consulted, with the use of Boolean descriptors and operators. 84 articles were retrieved on the subject, published in journals with an average impact factor of 5.42. The experimental and pre-clinical studies carried out in relation to cell replacement therapies in

polyglutamine diseases are discussed. The effectiveness of the use of stem cells from different sources in the improvement of motor function in experimental models of polyglutamine diseases is demonstrated. The need to perform multicenter studies in the medium and long term is revealed, for the evaluation of the therapeutic effects of cell replacement therapies in polyglutamine diseases.

Key words: mesenchymal stem cells; polyglutamine diseases; experimental models; cell replacement therapies.

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades poliglutamínicas humanas son causadas por la expansión patológica de una secuencia repetitiva de CAG ubicada en la región codificante de los genes respectivos. Los genes mutados son traducidos en proteínas con una ganancia de una función citotóxica que provoca la degeneración de poblaciones neuronales específicas.¹ Aun cuando se han evaluado varias alternativas terapéuticas para el tratamiento de pacientes afectados por alguna de estas enfermedades, los resultados han tenido muy poco impacto en el alivio de la sintomatología clínica.² Esta situación ha propiciado la exploración y desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas, entre las que se inscriben las terapias de reemplazo celular.³⁻⁵

Varios ensayos pre-clínicos se han realizado con el uso de modelos animales para enfermedades poliglutamínicas, con el propósito de evaluar los efectos terapéuticos del trasplante de células mesenquimales.⁶ Aun cuando los modelos empleados imponen limitaciones a la extrapolación al ser humano, los resultados obtenidos resultan alentadores, en cuanto se ha logrado mejorar indicadores histológicos y funcionales en los modelos tratados. Por su parte, los ensayos clínicos realizados para evaluar los efectos terapéuticos del trasplante de células mesenquimales en pacientes afectados por alguna enfermedad poliglutamínica, son escasos, aunque alentadores.⁷
⁸ Aquí se realiza una revisión de los estudios pre-clínicos y de los ensayos clínicos publicados, donde se evalúa la utilidad de las terapias de reemplazo celular en el contexto de las enfermedades poliglutamínicas.

MÉTODOS

Se consultaron las bases de datos HighWire y PubMed, con el uso de descriptores y operadores booleanos. Se emplearon los siguientes criterios de búsqueda: "células madre mesenquimales" y "enfermedades poliglutamínicas", y sus equivalentes en inglés, con el uso de operadores booleanos. Una vez escogida la bibliografía, se realizó un análisis de contenido de los diferentes artículos, y se seleccionó la información más relevante de acuerdo al objetivo del trabajo.

ENFERMEDADES POLIGLUTAMÍNICAS

Las enfermedades poliglutamínicas humanas se caracterizan por la manifestación de la sintomatología clínica una vez que la secuencia repetitiva de CAG se haya expandido por encima de cierto valor umbral. Cada una sigue un patrón neuropatológico específico a pesar de que las proteínas causales son expresadas de modo ubicuo, muestran inclusiones citoplasmáticas o intranucleares como característica histopatológica unificadora, y son eminentemente neurológicas. Dada la comunidad de rasgos que caracterizan a las enfermedades poliglutamínicas, se presume que compartan mecanismos fisiopatológicos similares.^{9,10}

Este grupo de dolencias incluye a la enfermedad de Huntington (HD, por sus siglas en inglés), la Atrofia Muscular Espinobulbar, la Atrofia Dentatorubral-Páldidoluysiana, y a las Ataxias Espinocerebelosas (SCA, por sus siglas en inglés) tipo 1, tipo 2, tipo 3 -o enfermedad de Machado-Joseph-, tipo 6, tipo 7 y tipo 17.¹ Estas enfermedades tienen una amplia distribución mundial, con regiones específicas que tienen elevada prevalencia debido a efectos fundadores. Así, la SCA2 alcanza las mayores tasas de prevalencia e incidencia a nivel mundial en Holguín, Cuba (42 por 100 000 habitantes), por lo que se considera un serio problema de salud para la región.¹¹

Dada la comunidad de rasgos que las caracterizan, se presume que compartan mecanismos fisiopatológicos similares.^{1,2} Se han propuesto varios mecanismos patogénicos para estas enfermedades, entre los que se encuentra el estrés oxidativo y trastornos del metabolismo energético, alteraciones de procesos transcripcionales y del transporte axonal rápido, excitotoxicidad y disfunción mitocondrial.¹² Aun cuando se han evaluado varias estrategias terapéuticas potenciales para estas enfermedades, aun no se dispone de ningún tratamiento curativo o paliativo efectivo.^{2,12}

El desarrollo de opciones terapéuticas para el tratamiento de pacientes afectados por alguna enfermedad poliglutamínica, se ha enfocado principalmente en la identificación de nuevos fármacos a través de la pesquisa de compuestos químicos. Aun cuando varios medicamentos han sido evaluados en el contexto de ensayos clínicos controlados, la escasa mejoría lograda con respecto a la sintomatología clínica ha estimulado la búsqueda de opciones terapéuticas alternativas, incluyendo las terapias de reemplazo celular. Estas últimas potencialmente actúan a través del reemplazo de neuronas dañadas, o de la activación de mecanismos endógenos de neurogénesis en el cerebro.⁸

APLICACIÓN DE TERAPIAS DE REEMPLAZO CELULAR A ENFERMEDADES POLIGLUTAMÍNICAS

Ensayos pre-clínicos

La mayoría de los ensayos pre-clínicos realizados con el propósito de evaluar los efectos terapéuticos de terapias de reemplazamiento celular en enfermedades poliglutamínicas, se han realizado en modelos animales para la enfermedad de Huntington.¹³⁻¹⁵ En estos modelos, el trasplante en el *estriatum* de células mesenquimales derivadas de la médula ósea, ha provocado una mejoría del desempeño motor o una significativa extensión de la supervivencia, o reducción de las alteraciones del comportamiento (tabla 1).¹⁶⁻²⁰ De modo significativo, varios estudios realizados en modelos animales para la HD han demostrado que las células mesenquimales sobrevivieron durante varias semanas después de ser trasplantadas en el *estriatum*, que se diferenciaron parcialmente en poblaciones de células neuronales, y que activaron mecanismos endógenos de neurogénesis.^{16,17} Estos hallazgos sugieren que las células mesenquimales trasplantadas pueden reducir el daño estriatal a través de la liberación de factores neurotróficos.⁸

Para la SCA1 se han reportado al menos tres estudios que exploran la utilidad de terapias de reemplazo celular en modelos animales ([tabla 1](#)). De modo general, estas investigaciones han obtenido resultados positivos, tanto desde el punto de vista histológico como funcional.²¹⁻²⁴ En particular, *Chen* y colaboradores²³ hicieron uso de una estrategia que combinó el reemplazamiento celular con la terapia génica. Los ratones mostraron un mayor número de células de Purkinje sobrevivientes, con una disminución de las inclusiones nucleares, resaltando los efectos potencialmente neuroprotectores de esta terapia combinada.

Tabla 1. Resumen de ensayos pre-clínicos de reemplazo celular para enfermedades poliglutamínicas

Enfermedad poliglutamínica	Modelo animal	Tipo de células madre	Ruta de Administración	Resultados histológicos	Resultados funcionales	Referencias
	Ratón transgénico HD-N171 ^{82Q}	Células mesenquimales derivadas de la médula ósea	Trasplante en el <i>estriatum</i>	Disminución de la atrofia estriatal. Proliferación y diferenciación de células neurales endógenas	No evaluado	16
	Ratón transgénico HD-YAC 128	Células mesenquimales con sobre-expresión de BDNF ¹ o NGF ²	Trasplante en el <i>estriatum</i>	Incremento en la supervivencia de células estriatales	Mejoría en el desempeño motor	17
HD	Ratón transgénico HD-R6/2-J	Células mesenquimales derivadas de la médula ósea	Trasplante en el <i>estriatum</i>	Diferenciación neuronal de las células mesénquimales	Niveles incrementados de quimosinas	18
	Ratón transgénico HD-R6/2-J	Células mesenquimales secretoras de factores neurotróficos	Trasplante en el <i>estriatum</i>	Pobre supervivencia de las células trasplantadas	Mejoría temporal del desempeño motor y extensión de la supervivencia	19
	Ratas HD-HD51 CAG	Células derivadas de la médula ósea	Trasplante en el <i>estriatum</i>	Astroцитos localizados alrededor del trasplante, sin infiltración	Beneficios de larga duración en el comportamiento	20
	Ratón transgénico B05	Precursores neuronales derivadas de la zona subventricular	Microinyección en la sustancia blanca del cerebelo	Capa molecular engrosada	Mejoría del desempeño motor	22

SCA1	Ratones SCA1 154Q/2Q	Células derivadas de la médula ósea ³	Inyección en el <i>sinus</i> retro-orbital derecho	Disminución de las inclusiones nucleares Mayor número de células de Purkinje	No evaluado	23
	Ratón transgénico B05	Células mesenquimales derivadas de la médula ósea	Inyecciones intratecales	Capa molecular engrosada. Disminución de la pérdida de células de Purkinje	Mejoría en la coordinación motora	24
	Ratón transgénico C57BL/6J SCA2	Células madre mesenquimales humanas	Inyección intravenosa o cerebelosa	Disminución de la pérdida de células de Purkinje	Retardo en el inicio de los trastornos motores y mejoría del desempeño motor	25
SCA2	Ratón B6D2-Tg(Pcp2SCA2) 11Pit/J	Células embrionarias del cerebelo	Inyección bilateral en el cerebelo	Injertos con buena supervivencia y gran número de células de Purkinje	No evaluado	26

¹ BDNF-factor de crecimiento derivado del cerebro; ² NGF- factor de crecimiento nervioso;

³ modificadas genéticamente usando AAV7 para portar dos genes modificadores de la SCA1: *DnaJB4* y *Pcbp3*

En el caso de la SCA2, hasta la fecha se han publicado dos estudios sobre la utilidad de terapias de reemplazo celular en modelos animales.^{25,26} La inyección intravenosa de células madre mesenquimales produjo un retardo en el inicio del deterioro funcional en ratones SCA2 transgénicos. Mientras tanto, la inyección células madre mesenquimales en el cerebelo a través del *foramen magnum*, antes y después de la pérdida de la función motora, no produjo mejoría.²⁵ Más recientemente, en ratones transgénicos SCA2 adultos de la cepa B6D2-Tg(Pcp2SCA2)11Pit/J tratados con inyecciones bilaterales intracerebelosas de una suspensión enriquecida de células embrionales cerebelosas positivas para EGFP, se obtuvo que los injertos sobrevivieron, que contenían numerosas células de Purkinje, y que no hubo reducción del tamaño del cerebelo de los ratones SCA2 homocigóticos, ni de la densidad de células de Purkinje, en comparación con los controles.²⁶

Ensayos clínicos

Aun cuando los resultados obtenidos en modelos animales para la enfermedad de Huntington son alentadores en cuanto a la reducción de la degeneración a nivel estriatal, las realizaciones de trasplantes similares en el contexto de ensayos clínicos no han tenido éxito en la mitigación de la expresión clínica de la enfermedad.⁸

Lamentablemente, las células injertadas han mostrado muy poca integración con las regiones afectadas del cerebro de los pacientes evaluados.²⁷ Dado que estos ensayos involucran la realización de trasplantes alogénicos a los pacientes, varias cuestiones necesitan ser reconsideradas, incluyendo el establecimiento de un protocolo apropiado de inmuno-supresión para evitar de modo efectivo la ocurrencia de reacciones de rechazo del injerto.

Hasta la fecha se han realizado dos ensayos clínicos en pacientes afectados por alguna SCA, con el propósito de evaluar la seguridad y eficacia de terapias de reemplazamiento celular en estas enfermedades. En un primer ensayo, un régimen de una inyección intratecal por semana para un total de cuatro, de células mesenquimales derivadas del cordón umbilical a 14 pacientes con SCA de tipo no especificado, mejoró significativamente las puntuaciones para la escala de Actividades de la Vida Diaria, y para la Escala Cooperativa Internacional para la Evaluación de Ataxia (ICARS, por sus siglas en inglés). Las puntuaciones para ambas escalas disminuyeron significativamente un mes después de iniciado el tratamiento. Durante la fase de seguimiento se evidenció que ocho pacientes permanecieron estables durante un periodo de nueve meses, mientras que seis pacientes progresaron después del tratamiento con una estabilización de cuatro meses como promedio.²⁸

En un segundo ensayo, la administración intratecal e intravenosa de células mesenquimales derivadas del cordón umbilical a 16 pacientes con diagnóstico genético de SCA1, 2 o 3, en el contexto de un ensayo clínico fase I/II, demostró la no ocurrencia de efectos secundarios no deseados durante los 12 meses de seguimiento. Adicionalmente, hubo mejoría en las puntuaciones para la Escala de Equilibrio de Berg, y para la ICARS.²⁹

Los resultados obtenidos de estos ensayos clínicos realizados en pacientes afectados por alguna SCA son alentadores, y representan una prueba de principio de las potencialidades terapéuticas de las células madre en las SCA. Sin embargo, en estos ensayos pudieron existir efectos placebo de importancia. En consecuencia, será necesaria la realización de un mayor número de ensayos clínicos en un mayor número de pacientes, para evaluar adecuadamente su seguridad y eficacia.

CONSIDERACIONES FINALES

Las terapias de reemplazo celular tienen significativas potencialidades terapéuticas en el contexto de las enfermedades poliglutamínicas, si bien es necesaria la realización de estudios multicéntricos a mediano y largo plazos, para la evaluación de la seguridad y eficacia de las terapias de reemplazo celular en este grupo de enfermedades humanas.

Conflictos de intereses

Los autores declaran que no hay conflicto de intereses.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Rüb U, Schöls L, Paulson H, Auburger G, Kermer P, Jen JC, et al. Clinical features, neurogenetics and neuropathology of the polyglutamine spinocerebellar ataxias type 1, 2, 3, 6 and 7. *Prog Neurobiol.* 2013;104:38-66.
- Matilla-Dueñas A, Ashizawa T, Brice A, Magri S, McFarland KN, Pandolfo M, et al. Pathological mechanisms underlying neurodegeneration in Spinocerebellar Ataxias. *Cerebellum* 2013;13(2):269-302.
- Wu Y-P, Chen W-S, Teng Ch, Zhang N. Stem cells for the treatment of neurodegenerative diseases. *Molecules.* 2010;15:6743-58.
- Wan W, Cao L, Kalionis B, Xia S, Tai X. Applications of induced pluripotent stem cells in studying the neurodegenerative diseases. *Stem Cells International.* 2015;2015:382530.
- Watson LM, Wong MMK, Becker EBE. Induced pluripotent stem cell technology for modelling and therapy of cerebellar ataxia. *Open Biol.* 2015;5:150056.
- Hueng-Chuen F, Li-Ing H, Ching-Shiang C, Shyi-Jou C, Gia-Sheun P, Tzu-Min C, et al. Polyglutamine (PolyQ) diseases: genetics to treatments. *Cell Transplantation.* 2014;23:441-58.
- Upadhyay G, Shankar S, Srivastava RK. Stem cells in neurological disorders: emerging therapy with stunning hopes. *Molecular Neurobiology.* 2015;52(1):610-25.
- Siska EK, Koliakos G, Petrakis S. Stem cell models of polyglutamine diseases and their use in cell-based therapies. *Front. Neurosci.* 2015;9:1-8.
- Corral-Juan M, Corral J, San Nicolás H, Volpini V, Matilla-Dueñas A. Genetics of the Autosomal Dominant Spinocerebellar Ataxias. In: eLS. John Wiley & Sons, Ltd: Chichester; 2011.
- Usdin K, House NCM, Freudenreich CH. Repeat instability during DNA repair: Insights from model systems. *Crit Rev Biochem Mol Biol.* 2015;50(2):142-67.
- Velázquez-Pérez LV, Sánchez-Cruz G, Santos-Falcón N, Almaguer-Mederos LE, Escalona-Batallan K, Rodríguez-Labrada R, et al. Molecular epidemiology of spinocerebellar ataxias in Cuba: insights into SCA2 founder effect in Holguin. *Neurosci Lett.* 2009;454:157-60.
- Kim GH, Kim JE, Rhie SJ, Yoon S. The role of oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Exp Neurobiol.* 2015;24(4):325-40.
- An MC, Zhang N, Scott G, Montoro D, Wittkop T, Mooney S, et al. Genetic correction of Huntington's disease phenotypes in induced pluripotent stem cells. *Cell Stem Cell.* 2012;11:253-63.
- Tousley A, Kegel-Gleason KB. Induced pluripotent stem cells in Huntington's disease research: progress and opportunity. *Journal of Huntington's disease.* 2016;5:99-131.

Huang W-J, Chen WW, Zhang X. Huntington's disease: molecular basis of pathology and status of current therapeutic approaches. *Experimental and Therapeutic Medicine*. 2016;12: 1951-56.

Snyder BR, Chiu AM, Prockop DJ, Chan AW. Human multipotent stromal cells (MSCs) increase neurogenesis and decrease atrophy of the striatum in a transgenic mouse model for Huntington's disease. *PLoS ONE*. 2010;5:e9347.

Dey ND, Bombard MC, Roland BP, Davidson S, Lu M, Rossignol J, et al. Genetically engineered mesenchymal stem cells reduce behavioral deficits in the YAC 128 mouse model of Huntington's disease. *Behav. Brain Res*. 2010;214:193-200.

Lin YT, Chern Y, Shen CK, Wen HL, Chang YC, Li H, et al. Human mesenchymal stem cells prolong survival and ameliorate motor deficit through trophic support in Huntington's disease mouse models. *PLoS ONE*. 2011;6:e22924.

Sadan O, Melamed E, Offen D. Intra-striatal transplantation of neurotrophic factor-secreting human mesenchymal stem cells improve motor function and extends survival in R6/2 transgenic mouse model for Huntington's disease. *PLoS Curr*. 2012;4:e4f7f6dc013d014e.

Rossignol J, Fink K, Davis K, Clerc S, Crane A, Matchynski J, et al. Transplants of adult mesenchymal and neural stem cells provide neuroprotection and behavioral sparing in a transgenic rat model of Huntington's disease. *Stem Cells*. 2014;32:500-9.

Wagner JL, O'Connor DM, Donsante A, Boulis NM. Gene, stem cell, and alternative therapies for SCA1. *Front. Mol. Neurosci*. 2016;9:67.

Chintawar S, Hourez R, Ravella A, Gall D, Orduz D, Rai M, et al. Grafting neural precursor cells promotes functional recovery in an SCA1 mouse model. *J. Neurosci*. 2009;21(29):13126-35.

Chen KA, Cruz PE, Lanuto DJ, Flotte TR, Borchelt DR, Srivastava A, et al. Cellular fusion for gene delivery to SCA1 affected Purkinje neurons. *Mol. Cell. Neurosci*. 2011;47:61-70.

Matsuura S, Shuvaev AN, Iizuka A, Nakamura K, Hirai H. Mesenchymal stem cells ameliorate cerebellar pathology in a mouse model of spinocerebellar ataxia type 1. *Cerebellum* 2014;13:323-30.

Chang YK, Chen MH, Chiang YH, Chen YF, Ma WH, Tseng CY, et al. Mesenchymal stem cell transplantation ameliorates motor function deterioration of spinocerebellar ataxia by rescuing cerebellar Purkinje cells. *J. Biomed. Sci*. 2011;18:54.

Purkartova Z, Tuma J, Pesta M, Kulda V, Hajkova L, Sebesta O, et al. Morphological analysis of embryonic cerebellar grafts in SCA2 mice. *Neuroscience Letters*. 2014;558:154-8.

Benraiss A, Goldman SA. Cellular therapy and induced neuronal replacement for Huntington's disease. *Neurotherapeutics* 2011;8:577-90.

Dongmei H, Jing L, Mei X, Ling Z, Hongmin Y, Zhidong W, et al. Clinical analysis of the treatment of spinocerebellar ataxia and multiple system atrophy-cerebellar type with umbilical cord mesenchymal stromal cells," *Cytotherapy*. 2011;13:913-7.

Jin JL, Liu Z, Lu ZJ, Guan DN, Wang C, Chen ZB, et al. Safety and efficacy of umbilical cord mesenchymal stem cell therapy in hereditary spinocerebellar ataxia. *Curr. Neurovasc. Res.* 2013;10:11-20.

Recibido: 17 de mayo de 2017.

Aprobado: 15 de junio de 2017.

Luis Enrique Almaguer Mederos. Centro para la Investigación y Rehabilitación de Ataxias Hereditarias. Holguín, Cuba.
Correo electrónico: laImaguermederos@gmail.com