



## REVISIÓN

# Enfermedad de Parkinson: actualización de estudios preclínicos con el uso de células troncales pluripotentes inducidas

V. Valadez-Barba<sup>a</sup>, K. Juárez-Navarro<sup>a</sup>, E. Padilla-Camberos<sup>a</sup>, N.F. Díaz<sup>b</sup>, J.R. Guerra-Mora<sup>c</sup> y N.E. Díaz-Martínez<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> *Biotecnología Médica y Farmacéutica, Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, Guadalajara, Jalisco, México*

<sup>b</sup> *Departamento de Fisiología y Desarrollo Celular, Instituto Nacional de Perinatología, Ciudad de México, México*

<sup>c</sup> *Instituto Nacional de Cancerología, Ciudad de México, México*

Recibido el 6 de agosto de 2020; aceptado el 1 de enero de 2021

Accesible en línea el 11 de marzo de 2021

## PALABRAS CLAVE

Enfermedad de Parkinson;  
Células troncales pluripotentes inducidas;  
Modelo preclínico;  
Tratamiento;  
Neurodegeneración;  
Neuronas dopaminérgicas

**Resumen** La enfermedad de Parkinson (EP) es la segunda enfermedad neurodegenerativa más común a nivel mundial en adultos mayores. Se caracteriza por la pérdida de neuronas dopaminérgicas (nDAs) en la *sustancia nigra pars compacta* del mesencéfalo y en algunos casos acompañada de la aparición de cuerpos intracitoplasmáticos de Lewy de  $\alpha$ -sinucleína, signo patognomónico de la enfermedad. La EP se diagnostica clínicamente por la presencia de alteraciones motoras principalmente, y en la actualidad los tratamientos presentan nula actividad neuroprotectora. Aún no se han establecido las causas exactas de la EP, por lo que en los últimos años se ha buscado el desarrollo de modelos preclínicos más precisos, utilizando células troncales pluripotentes inducidas, permitiendo el estudio de la enfermedad de manera *in vitro* para generar conocimiento novedoso sobre su patogénesis y el descubrimiento de nuevos posibles blancos terapéuticos o el desarrollo de nuevos fármacos.

© 2021 Sociedad Española de Neurología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

\* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: [ediaz@ciatej.mx](mailto:ediaz@ciatej.mx) (N.E. Díaz-Martínez).

**KEYWORDS**

Parkinson's disease;  
Induced pluripotent  
stem cells;  
Preclinical model;  
Treatment;  
Neurodegeneration;  
Dopaminergic  
neurons

**Parkinson's disease: An update on preclinical studies of induced pluripotent stem cells**

**Abstract** Parkinson's disease (PD) is the second most prevalent neurodegenerative disease among adults worldwide. It is characterised by the death of dopaminergic neurons in the substantia nigra pars compacta and, in some cases, presence of intracytoplasmic inclusions of  $\alpha$ -synuclein, called Lewy bodies, a pathognomonic sign of the disease. Clinical diagnosis of PD is based on the presence of motor alterations. The treatments currently available have no neuroprotective effect. The exact causes of PD are poorly understood. Therefore, more precise preclinical models have been developed in recent years that use induced pluripotent stem cells. In vitro studies can provide new information on PD pathogenesis and may help to identify new therapeutic targets or to develop new drugs.

© 2021 Sociedad Española de Neurología. Published by Elsevier España, S.L.U. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

**Introducción**

La enfermedad de Parkinson es la segunda enfermedad neurodegenerativa con mayor incidencia a nivel mundial, en la mayoría de los casos se presenta durante la edad adulta<sup>1</sup>. Es caracterizada por 2 procesos patológicos principales: la pérdida de neuronas dopaminérgicas (nDA) en la sustancia nigra pars compacta del mesencéfalo ventral<sup>2</sup> y la presencia de agregados intracelulares de la proteína  $\alpha$ -sinucleína en esta misma área del cerebro, conocidos como cuerpos de Lewy<sup>3</sup>. Clínicamente se diagnostica por 4 alteraciones motoras distintivas: temblor en reposo, rigidez muscular, inestabilidad postural y bradicinesia<sup>4</sup>. Recientemente se han identificado alteraciones no motoras relacionadas con la enfermedad, como la degeneración cognitiva, depresión, alteraciones del sueño y la pérdida del olfato<sup>5</sup>.

En la actualidad los tratamientos disponibles presentan un efecto solo sintomático, es decir, ningún fármaco tiene efecto neuroprotector en los pacientes<sup>6</sup>. El fármaco más utilizado, la levodopa, es para el control de la sintomatología motora de la enfermedad de Parkinson (EP)<sup>7</sup> y se ha utilizado desde los años 60 del siglo xx<sup>8</sup>. La levodopa es un aminoácido que por la acción de la enzima dopadescarboxilasa en el cerebro estimula los receptores dopaminérgicos<sup>9</sup>. En cambio, las células troncales (CT) tienen el potencial de generar un modelo preclínico *in vitro* para enfermedades neurodegenerativas como el Parkinson., además de su alta capacidad de proliferación, su habilidad de mimetizar los diferentes estadios de la enfermedad y su relativa fácil obtención, en contraste con la obtención de tejidos *post-mortem*, que son regularmente utilizados para el estudio de enfermedades neurodegenerativas<sup>10</sup>.

**Modelos animales utilizados en la enfermedad de Parkinson**

Existen diversos modelos animales que buscan imitar la lesión neuropatológica producida en la enfermedad de Parkinson. Sin embargo, ninguno tiene la capacidad de

reproducir enfermedades humanas, y es por eso que se requiere de un conjunto de modelos y técnicas para estudiar cada aspecto de la enfermedad que se manifiesta en los pacientes humanos, como la alta sensibilidad de las nDA, la formación de cuerpos de Lewy y alteraciones del movimiento<sup>10,11</sup>. Los modelos animales pueden dividirse en 2 tipos: basados en la administración de neurotoxinas y en modificaciones genéticas. Los más utilizados son aquellos basados en la administración de neurotoxinas en animales, algunas de las toxinas más estudiadas son rotenona, paraquat, 6-hidroxi-dopamina (6-OHDA) y 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina (MPTP)<sup>12-14</sup>. Adicional a estos 2 modelos principales también se utiliza la versión parcial de la vía nigrostriatal, que consiste en realizar una incisión mecánica en la ruta dopaminérgica nigrostriatal en el haz del prosencéfalo medial, resultando en una degeneración progresiva de las nDA en la SNP, mimetizando la EP<sup>15</sup>.

Dentro de los animales más utilizados para realizar el modelaje se encuentran las ratas, los ratones, el pez cebra, la mosca *Drosophila melanogaster*, *Caenorhabditis elegans* y los primates no humanos<sup>16</sup>. Modelos de la EP en *Drosophila melanogaster* han mostrado una disminución locomotora y dificultad para volar<sup>17</sup>. *Caenorhabditis elegans* disminuye su respuesta de ralentización basal, menor supervivencia, alteraciones en los ciclos de defecación y reproducción, características fenotípicas de la EP<sup>18,19</sup>. El pez cebra presenta alteraciones en su actividad locomotriz, como reducción de cruces, distancia de nado y velocidad, además de aumento del número de congelaciones y su duración<sup>20,21</sup>. Los modelos murinos sirven para estudiar la enfermedad desde un enfoque anatómico, bioquímico y conductual, debido a que brindan un manejo sencillo, con alta reproducibilidad que reflejan el estado tardío de la EP<sup>22,23</sup>. Estudios de cambios de comportamiento en ratones demuestran una disminución en coordinación, balance, función gastrointestinal, tamaño de pasos, agudeza olfatoria, dificultad para formar nidos y alteraciones en la capacidad de caminar<sup>24,25</sup>. Los modelos en ratas suelen mostrar rigidez en las extremidades, déficits cognitivos, reducción de la actividad motora, movimiento rotacional, hipocinesia, bradicinesia y asimetría postural<sup>20,26</sup>. Los primates no humanos

muestran cambios conductuales análogos a los de pacientes de EP incluyendo bradicinesia, rigidez de extremidades, anormalidad postural, dificultad de mantener el balance, temblor en reposo, síndrome parkinsoniano bilateral estable, inestabilidad del gesto, deterioro de las habilidades motoras gruesas y finas<sup>16,20,27</sup>.

## Modelos basados en neurotoxinas

Uno de los modelos con toxinas más utilizados es el de la rotenona, un plaguicida o insecticida liposoluble, que genera estrés oxidativo que daña selectivamente las neuronas dopaminérgicas, ya que inhibe el complejo I de la cadena respiratoria mitocondrial, generando deficiencias motoras características de la enfermedad<sup>12,13,28</sup>. Como modelo de la EP en ratones tiene la capacidad de reproducir las características de comportamiento de humanos y formar inclusiones intracelulares similares a los cuerpos de Lewy<sup>14,29</sup>. En ratas la exposición a rotenona genera una degeneración de las nDA y la formación de inclusiones celulares similares a los cuerpos de Lewy. Estos efectos se pueden observar como deficiencias motoras similares a la EP, incluyendo: hipocinesia, rigidez postural de manera encorvada y temblores en los miembros<sup>12,13</sup>.

Otra toxina utilizada en modelos de la EP es el paraquat o 1,1-dimetil-4,4-dipiridinio, comúnmente utilizado como herbicida, el cual produce radicales libres que reaccionan con las membranas lipídicas de las células. Se ha demostrado cierta selectividad de este compuesto hacia las nDAs de la *sustancia nigra pars compacta* (SNPc) positivas a tirosina hidroxilasa (TH)<sup>12,13,30</sup>. La administración sistémica en ratas del paraquat produce reducción en las actividades motoras, se reducen las fibras y neuronas TH positivas en la SNPc y presenta la capacidad de producir cuerpos de Lewy, con la desventaja de que se han obtenido resultados variables en cuanto a la muerte neuronal<sup>14</sup>.

Hasta el momento la toxina más utilizada es la 6-OHDA, presenta una actividad inhibitoria de la cadena respiratoria mitocondrial con formación de radicales libres al ser metabolizada. Tres características importantes de esta toxina son: 1) induce una degeneración rápida; 2) tiene una gran afinidad por los transportadores de noradrenalina y dopamina, provocando la muerte de neuronas adrenérgicas y dopaminérgicas; y 3) no posee la capacidad de cruzar la barrera hematoencefálica, por lo que la administración sistémica de la toxina no produce parkinsonismo, al contrario de la inyección en roedores y primates no humanos<sup>12–14,31,32</sup>. En este último, al realizar una lesión unilateral en el prosencéfalo medial se produce una pérdida de las neuronas reactivas a TH en la SNPc y una pérdida de más del 90% de nDA, generado una reducción y desbalance de las actividades motoras<sup>33,34</sup>.

En ratas la lesión unilateral con 6-OHDA produce un daño completo en las neuronas dopaminérgicas, generando un comportamiento motor asimétrico, siendo un modelo ideal para estudios de terapias de reemplazo celular y factores neuroprotectores. Por otra parte, para producir lesiones parciales es necesario disminuir la dosis en lesiones de tipo unilateral, con el propósito de estudiar los mecanismos patofisiológicos y de neurodegeneración, debido a que las

lesiones causadas en el estriado causan cambios neurodegenerativos de manera progresiva en las nDA de la SNPc<sup>16</sup>.

La cuarta toxina más popular en los modelos de la EP es el MPTP, una protoxina que al ser metabolizada a través de la monoaminoxidasa B forma el metabolito 1-metil-4-fenilpiridinio (MPP+). Su mecanismo de acción se basa en la liberación excesiva de dopamina, que al ser metabolizada genera especies reactivas de oxígeno y radicales libres de manera excesiva. Adicionalmente, el MPP+ es un inhibidor del complejo I de la cadena de electrones mitocondrial, disminuyendo la producción de adenosín trifosfato. Sin embargo, esta toxina no es selectiva a neuronas dopaminérgicas de la SNPc, ni suele inducir la formación de cuerpos de Lewy<sup>12,13</sup>.

Los modelos con MPTP en primates no humanos brindan información sobre posibles terapias y mecanismos patogénicos de la EP, si se realiza una lesión de manera sistémica el comportamiento será muy similar a la enfermedad presente en los humanos con EP. Sin embargo, es un procedimiento largo y con una tasa de mortalidad considerablemente alta. En cambio, los ratones exhiben características neuropatológicas y bioquímicas del daño del sistema dopaminérgico, además de una reducción en la actividad motora. Si se realiza una lesión de manera sistémica en ratones causará cierta discapacidad en el sistema dopaminérgico, ideal para estudiar procesos patofisiológicos y neurodegenerativos<sup>16</sup>. En ambas especies el MPTP causa daños en la ruta nigroestriatal con una gran pérdida de nDA en el estriado y la SNPc; la mayor desventaja es que no se ha observado la formación de cuerpos de Lewy con este modelo (tabla 1)<sup>14,35</sup>.

Es importante mencionar que los modelos de la EP basados en neurotoxinas son administrados en 3 áreas principales del cerebro: el estriado, el haz medio del prosencéfalo y la *sustancia nigra* (SN)<sup>11</sup>. Al ser afectadas estas regiones del cerebro se activan mecanismos compensatorios que buscan mantener la actividad neurológica, a través de alteraciones en la síntesis y liberación de dopamina, aumento en la actividad de TH, modificaciones en la actividad del estriado, el cerebelo, la corteza y las áreas corticales, creando un impacto sobre los aspectos clínicos de la EP<sup>23</sup>.

## Modelos genéticos

Los modelos genéticos tienen la función de simular los mecanismos relacionados con las formas genéticas de la EP. Es necesario mencionar que solo alrededor del 5% al 10% de los pacientes de la EP presentan un carácter genético<sup>4</sup>. En este caso los fenotipos patológicos y de comportamiento en los modelos murinos suelen ser diferentes a los presentados por los humanos, estudiado principalmente la función de los genes  $\alpha$ -syn, LRRK2, PINK1, PARKIN y DJ-1<sup>14</sup>. Se pueden clasificar en 3 enfoques diferentes: *knock-out*, sobreexpresión y transgénicos. Sin embargo, los modelos en *Drosophila melanogaster*, *Caenorhabditis elegans* y murinos no muestran las deficiencias motoras de manera representativa para el estudio clínico humano, en cambio su relevancia se basa en el estudio de la forma genética de la EP, enfocándose en genes específicos relacionados con la enfermedad<sup>23</sup>.

El gen  $\alpha$ -syn codifica la proteína  $\alpha$ -sinucleína, componente principal de los cuerpos de Lewy presentes en la

**Tabla 1** Comparación de diferentes modelos de la enfermedad de Parkinson con sus respectivas ventajas y desventajas

Modelo	Tipo	Animal	Efecto	Ref.
Tóxico	Rotenona	Ratas	Degeneración de neuronas nigroestriadas Disminución del número de nDA Formación de cuerpos de Lewy Deficiencias motoras: hipocinesia, rigidez postural y temblores en miembros	Cuenca-Alcañiz y González-Sánchez <sup>12</sup> , Blesa et al. <sup>13</sup> , Blesa et al. <sup>14</sup>
		Ratones	La aplicación sistémica reduce la actividad motora, pérdida de fibras y neuronas en SNPC, disminución de células TH positivas Formación de cuerpos de Lewy	Blesa et al. <sup>13</sup> , Blesa et al. <sup>14</sup> , Mohamed et al. <sup>44</sup>
	6-OHDA	Ratas	Produce un estado de parkinsonismo, locomoción reducida No se han logrado observar cuerpos de Lewy La lesión unilateral produce un daño completo en las neuronas dopaminérgicas Genera un comportamiento motor asimétrico Lesiones en el estriado causan cambios neurodegenerativos de manera progresiva en las nDA de la SNPC	Blesa et al. <sup>13</sup> , Bankiewicz et al. <sup>16</sup>
		Primates	Produce un estado de parkinsonismo No se han logrado observar cuerpos de Lewy La lesión unilateral en el prosencéfalo medial produce una pérdida de las neuronas reactivas a TH en la SNPC Pérdida de más del 90% de nDA Reducción y desbalance de las actividades motoras	Annett et al. <sup>33</sup> , Dunnett et al. <sup>34</sup>
	MPTP	Primates	No induce la formación de cuerpos de Lewy La lesión de manera sistémica generará un comportamiento muy similar al de los humanos con EP Locomoción reducida Procedimiento largo y con una tasa de mortalidad considerablemente alta Daños en ruta nigroestriatal con una gran pérdida de nDA en el estriado y la SNPC No forma cuerpos de Lewy	Blesa et al. <sup>13</sup> , Blesa et al. <sup>14</sup> , Bankiewicz et al. <sup>16</sup> Dauer y Przedborski <sup>35</sup>
		Ratones	La lesión de manera sistémica causará discapacidad en el sistema dopaminérgico Reducción de la actividad motora y bradiquinesia Daños en ruta nigroestriatal con una gran pérdida de nDA en el estriado y la SNPC No forma cuerpos de Lewy	Blesa et al. <sup>13</sup> , Blesa et al. <sup>14</sup> , Bankiewicz et al. <sup>16</sup> Dauer y Przedborski <sup>35</sup>
Genético	$\alpha$ -syn	Ratones	Disminución de los niveles de TH y dopamina Exhibición de un comportamiento deteriorado Falta de resultados consistentes en cuanto a la neurodegeneración producida	Blesa et al. <sup>14</sup> ,
		Ratas	Se han dirigido factores virales con $\alpha$ -sinucleína exógena, con los cuales se ha observado enfermedad en la proteína y neurodegeneración dopaminérgica	Decressac et al. <sup>36</sup>

Tabla 1 (continuación)

Modelo	Tipo	Animal	Efecto	Ref.
	LRRK2	Ratones	Poco o nulo daño en la función de las nDA en la SNPc Neurodegeneración o cambios en la estructura neuronal <i>Knock-out</i> ha logrado producir acumulación de $\alpha$ -sinucleína y ubiquitina, inhibir la diferenciación de progenitores neuronales a nDA y aumentar la muerte celular En el caso de una sobreexpresión del gen, se ha observado una ligera neurodegeneración de las nDA en la SNPc, pero sin alteración de los niveles de dopamina ni en la actividad locomotriz	Stoddard-Bennett T y Reijo Pera R <sup>10</sup> , Blesa et al. <sup>14</sup> , Milosevic et al. <sup>37</sup> , Hinkle et al. <sup>38</sup> , Chen et al. <sup>39</sup>
	PINK1	Ratones	Reducción gradual de los niveles de dopamina y baja actividad locomotriz No se ha observado la formación de cuerpos de Lewy o degeneración nigroestriatal	Gispert et al. <sup>40</sup>
		<i>Drosophila melanogaster</i>	Mutaciones en el gen PINK1 han mostrado defectos en la habilidad para volar, anomalías en el complejo I mitocondrial derivando a niveles de ATP reducidos	Obeso et al. <sup>41</sup> , Vanhauwaert y Verstreken <sup>42</sup>
	PARKIN	Ratones	No muestra anomalías en el comportamiento de los animales, a pesar de la ligera disminución de liberación de dopamina	Stoddard-Bennett y Reijo Pera <sup>10</sup> , Kitada et al. <sup>43</sup>
	DJ-1	Ratones	Disminución en la capacidad motora Reducción de dopamina liberada en el estriado, pero no en la SNPc	Stoddard-Bennett y Reijo Pera <sup>10</sup> , Kitada et al. <sup>43</sup>

$\alpha$ -syn:  $\alpha$ -sinucleína; EP: enfermedad de Parkinson; MPTP: 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina; nDA: neuronas dopaminérgicas; 6-OHDA: 6-hidroxidopamina; SNPc: sustancia *nigra pars compacta*<sup>44</sup>; TH: tirosina hidroxilasa.

EP. Ratones transgénicos presentan una disminución en los niveles de TH y dopamina, afectando su comportamiento<sup>14</sup>. En modelos con ratas se han dirigido factores virales con  $\alpha$ -sinucleína, observando enfermedad en la proteína y neurodegeneración dopaminérgica, siendo un modelo ideal para probar nuevas estrategias neuroprotectoras<sup>36</sup>.

El gen LRRK2 es requerido para la supervivencia neuronal y su edición génica es la más común en los modelos de PD de tipo genético<sup>10</sup>. En los modelos con ratones se ha demostrado tener un poco o nulo daño en la función de las nDA en la SNPc<sup>14</sup>. En cambio, en ratones *knock-out* se ha logrado producir acumulación de  $\alpha$ -sinucleína e inhibir la diferenciación de progenitores neuronales a nDA y aumentar la muerte celular<sup>10,37,38</sup>. En el caso de una sobreexpresión del gen se ha observado una ligera neurodegeneración de las nDA en la SNPc, pero sin alteración de los niveles de dopamina ni en la actividad locomotriz<sup>39</sup>.

Resultados de modelos en ratones sin el gen PINK1, gen esencial para la supervivencia neuronal bajo estrés oxidativo<sup>10</sup>, han demostrado una reducción gradual en los niveles de dopamina acompañada de una baja actividad locomotriz, sin la formación de cuerpos de Lewy o una degeneración nigroestriatal<sup>40</sup>. Por otra parte, los modelos utilizando *Drosophila melanogaster* con mutaciones en el gen PINK1 han mostrado defectos en la habilidad para volar y anomalías en el complejo I mitocondrial<sup>41,42</sup>.

En el caso de los estudios realizados con ratones sin el gen de PARKIN, no se pudo comprobar anomalías en el comportamiento de los animales, a pesar de la ligera disminución de la liberación de dopamina. Finalmente, modelos en ratones con mutaciones en el gen DJ-1, necesario para la resistencia contra estrés oxidativo, mostraron una disminución en la capacidad motora, una reducción de dopamina liberada en el estriado, pero no en la SNPc<sup>10,43</sup> (tabla 1).

## Modelos preclínicos de terapia celular

Actualmente los tratamientos más utilizados se basan en la sustitución de la dopamina o administración de agonistas de manera farmacológica, pero tienen la desventaja de perder su efectividad con el avance de la enfermedad y generan varios efectos secundarios<sup>45,46</sup>, además de la alternativa quirúrgica o estimulación profunda de cerebro, que a su vez puede generar hemorragia, infección y efectos secundarios neuropsiquiátricos<sup>47</sup>. La generación de nDAs a partir de CT para su trasplante representan un gran avance para el futuro de la terapia celular de enfermedades como la EP, ya que tiene como objetivos que las nDA injertadas puedan sobrevivir y formar conexiones con el cerebro de los pacientes, produciendo mejorías clínicas mesurables<sup>48,49</sup>. Sin embargo,



para poder ser llevada a la clínica debe de ser probada en modelos preclínicos *in vitro* e *in vivo* y estandarizar factores críticos para la eficacia y seguridad del procedimiento, como la selección de pacientes, la colocación del injerto, su composición celular y regulación inmunológica<sup>48,50,51</sup>.

Algunas de las fuentes de tejido que se han utilizado para la obtención de nDA incluyen tejido mesencefálico ventral fetal humano (hfVM), médula adrenal, bulbo olfatorio, cuerpo carotídeo, células troncales embrionarias, células troncales neurales (NSC), células troncales mesenquimales, células troncales pluripotentes inducidas (iPSC) y células troncales partenogénicas humanas<sup>45,46</sup>.

Los trasplantes de médula adrenal fueron los primeros en ser estudiados para el tratamiento de la EP<sup>46</sup>. En un estudio clínico humano se realizaron trasplantes de médula adrenal, hfVM y tejido adrenal fetal. La médula adrenal generó mejorías de manera bilateral y simétricas, disminuyendo la rigidez, inestabilidad postural y alteraciones de marcha<sup>52,53</sup>. El hfVM generó mejorías considerables en la rigidez, inestabilidad postural, alteraciones de marcha, bradicinesia y expresión facial, aunque el temblor continuó manifestándose. El tejido adrenal fetal únicamente mostró disminución de rigidez y bradicinesia<sup>54</sup>. Sin embargo, dejaron de ser investigados debido a la alta mortalidad asociada a la cirugía abdominal y craneal<sup>46</sup>. Además del desarrollo de otros métodos terapéuticos, como el trasplante hfVMs, que pueden ser diferenciadas hacia nDAs, demostraron una alta recuperación histológica y funcional, sin formación de tumores en ratones y primates<sup>55</sup>. En estudios clínicos humanos en donde los pacientes recibieron trasplantes de manera bilateral en el putamen, se demostró que los injertos pueden sobrevivir a pesar del avance de la EP y el continuo tratamiento farmacológico, reinervando el estriado, restableciendo la liberación controlada de dopamina e integrándose en el circuito nigrostriatal<sup>48</sup>. A su vez, presenta complicaciones quirúrgicas en adición a la dificultad técnica de disección del tejido fetal resultando en una combinación de poblaciones celulares con alta mortalidad, sin mencionar la limitada disponibilidad de tejido fetal, complicaciones éticas y discinesias postoperatorias<sup>56,57</sup>.

Las NSC provenientes de adultos mantienen las propiedades de progenitores neurales característicos del sistema nervioso fetal. Sin embargo, su comportamiento es determinado por el ambiente extracelular en el área donde residen<sup>46,58</sup>. Al encontrarse en contacto con células endoteliales de vasos sanguíneos constituyen el nicho neurovascular, liberando factores que promueven su proliferación y neurogénesis<sup>59</sup>. En cambio, cercanas al bulbo olfatorio se encuentran células de tipo astrocíticas que tienen la capacidad de autorrenovarse y dar origen a progenitores de neuroblastos, aunque aún no se define su capacidad de formar nDAs funcionales<sup>46,55</sup>. Un estudio basado en que las células gliales envolventes olfatorias permiten una reentrada continua de las fibras axónicas en el bulbo olfatorio durante la adultez<sup>60</sup>, demostró que la combinación de trasplantes de nervios periféricos y centrales genera un andamio promotor de crecimiento axonal e innervación dopaminérgica en el estriado<sup>61</sup>. Otro tipo de NSC han sido descritas en el cuerpo carotídeo<sup>46</sup>, un órgano quimiosensorial derivado de la cresta neural compuesto de células glómicas tipo neuronales y envueltas en células de tipo glial<sup>62</sup>. Las células tipo neuronales presentan altos niveles de dopamina almacenada

en vesículas, del factor neurotrófico derivado del cerebro y GDNF, demostrando su contribución a la neurogénesis, neuroprotección y reemplazo de nDA<sup>63</sup>. Al ser trasplantados en la vía nigrostriatal de ratas parkinsonianas y primates no humanos tratados con MPTP muestran recuperación histológica y funcional, induciendo el brote de fibras nigrostriatales dopaminérgicas, sin efectos secundarios relacionados con el procedimiento quirúrgico<sup>62,64,65</sup>.

Las iPSC presentan la ventaja de generar nDA específicas de cada paciente sin conflictos éticos e inmunológicos, además de su alta diversidad de origen, aunque aún presentan probabilidades de mutagenicidad, daños en la integridad del genoma y formación de teratomas<sup>45,66,67</sup>.

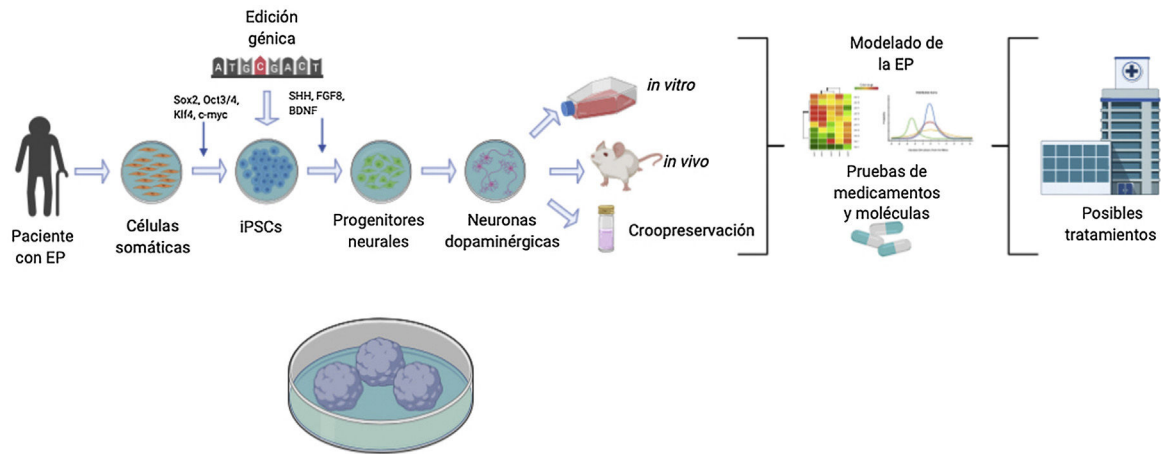
## Modelo de células troncales pluripotentes inducidas

Las CT humanas son células no diferenciadas, que tienen la capacidad de autorrenovarse y diferenciarse a diferentes tipos celulares derivados de las 3 capas germinales: endodermo, mesodermo y ectodermo<sup>68</sup>. Algunos autores han clasificado las CT en 2 grupos: embrionarias y adultas o somáticas. Se diferencian en que presentan distintos grados de potencialidad, ya que pueden ser pluripotenciales, multipotenciales y/o células progenitoras de tejidos<sup>69</sup>. Las células pluripotenciales de tipo embrionario proceden del embrioblasto, que es la masa interna del blastocisto y se caracterizan por poder formar cualquier tipo de célula presente en un adulto, excepto los tejidos extraembrionarios<sup>70</sup>.

La nueva tecnología de las CT son las iPSC; estas células se derivan de células somáticas como los fibroblastos, que son reprogramadas con los factores de Yamanaka (Oct3/4, Sox2, c-Myc y Klf4) hacia un estado pluripotente<sup>71</sup>. Desde este nuevo estadio las iPSCs pueden ser diferenciadas hacia cualquier tipo celular presente en un adulto<sup>72</sup>. Estas células presentan un gran potencial para el modelado *in vitro* de enfermedades neurodegenerativas como la EP<sup>73</sup>.

## Generación de neuronas dopaminérgicas

La generación de nDA se puede realizar a partir de células adultas reprogramadas de manera *in vitro* hacia un estado pluripotente. Posteriormente, estas células pueden ser diferenciadas hacia nDA, con la posibilidad de modificar genéticamente las iPSC para estudiar el efecto de un gen en específico, mediante el uso de protocolos de diferenciación neural establecidos que en su mayoría hacen uso de los factores y morfógenos expresados en el desarrollo normal de las nDA (Sonic Hedgehog, el factor de crecimiento de fibroblastos 8, el factor neurotrófico derivado del cerebro, entre otros). Las células obtenidas pueden ser utilizadas para investigación *in vitro* con el objetivo de realizar modelos celulares de la EP que mimeticen su patofisiología y sean útiles en el desarrollo de moléculas neuroprotectoras para el desarrollo de futuros tratamientos<sup>74-76</sup>. Una de las mayores ventajas de este modelo es que son compatibles con la mayoría de las técnicas de modificación genética disponibles actualmente: nucleasas de dedo de cinc (ZFN), las nucleasas efectoras tipo activador de la transcripción (TALEN) y



**Figura 1** Diagrama descriptivo de generación de modelos de células troncales pluripotentes inducidas (iPSC) para la enfermedad de Parkinson (EP).

Los modelos de la EP utilizando la tecnología de iPSC comienzan con la obtención de células somáticas de pacientes con la EP. Una vez que se establecen los cultivos de células somáticas, p. ej. fibroblastos, se procede a realizar la reprogramación celular para obtener iPSCs utilizando vectores, p. ej. Sendai, lentivirus, retrovirus y los factores de transcripción, Oct3/4, Sox2, c-Myc y Klf-4. Consecuentemente a la reprogramación celular exitosa, se dirige la diferenciación hacia el destino neuronal dopaminérgico adicionando factores de transcripción, p. ej. Sonic Hedgehog, factor de crecimiento de fibroblastos 8, factor neurotrófico derivado del cerebro. Adicionalmente, en el estado pluripotente las iPSC pueden estar sujetas a modificaciones genéticas para sobreexpresar o inhibir genes de interés clínico. Finalmente, las neuronas dopaminérgicas generadas son utilizadas como modelo de la EP y realizar estudios *in vivo*, *in vitro* o criopreservación para su futuro uso, dirigiendo al descubrimiento de futuros tratamientos.

el sistema de repetición palindrómica corta entrecruzada regularmente (CRISPR)/CRISPR-Cas9 (fig. 1)<sup>77</sup>.

## Aplicaciones de células troncales pluripotenciales inducidas en la enfermedad de Parkinson

A partir del siglo pasado se comenzaron a realizar experimentos para comprender y tratar la EP, utilizando diferentes enfoques para su análisis y generando información para el avance científico. Con el descubrimiento de Yamanaka se ha explotado la investigación sobre sus aplicaciones en la EP<sup>72,78,79</sup>. El desarrollo de modelos preclínicos que utilizan iPSC ha aumentado de manera considerable en la última década, y cada uno de ellos nos acerca cada vez más a entender mejor la fisiopatología de la EP<sup>72,75</sup>. La investigación sobre el desarrollo de la EP de tipo familiar se ha basado en el estudio de factores genéticos involucrados en las patogénesis del trastorno (tabla 2)<sup>79</sup>. Principalmente, se busca inducir una disminución de las funciones motoras características de la enfermedad de Parkinson, como son la bradiquinesia, los temblores, la rigidez y el comportamiento, así como el papel de algunos genes que han demostrado estar involucrados en su desarrollo, incluyendo:  $\alpha$ -SNCA, LRRK2, PINK1, PARKIN y GBA1<sup>14,35,81,82,83–86</sup>.

El gen de SNCA se ha relacionado con la acumulación o sobreexpresión de la proteína  $\alpha$ -sinucleína en las nDA<sup>84</sup>. En cuanto al gen LRRK2 se ha descubierto que al perder su funcionalidad se reduce el crecimiento de las neuritas, aumenta el estrés oxidativo, hay un daño de ADN, además de deteriorar la capacidad de autorrenovación y diferenciación neuronal de iPSC<sup>85</sup>. Se ha demostrado una correlación entre

los genes de PINK1 y Parkina debido a que ambos contribuyen para la homeostasis celular y mitocondrial en nDA. Adicionalmente, nDA derivadas de iPSC que presentan mutaciones en los genes PINK1 o Parkina muestran fenotipos anormales de mitofagia y autofagia, además de mayor vulnerabilidad al estrés<sup>86,87</sup>. Finalmente, las mutaciones del gen GBA1 han indicado una alta relación con altos niveles de  $\alpha$ -sinucleína, autofagia, defectos lisosomales, desbalance en la homeostasis del calcio, reducción de la toma y almacenamiento de dopamina en nDA derivadas de iPSC<sup>83</sup>. En adición, las alteraciones epigenéticas afectan la metilación del ADN en los pacientes induciendo un recambio erróneo de proteínas y variaciones en la morfología celular<sup>88</sup>.

En la actualidad se han obtenido líneas celulares de iPSC derivadas de pacientes con la EP, brindando la ventaja de que los fenotipos específicos de la EP son originados por la genética de los pacientes desde las primeras etapas de la enfermedad, ya sea en casos de EP hereditarios o esporádicos<sup>74,89</sup>. La mayoría de los casos de la EP son de tipo esporádico, del cual ha sido más complicado definir su etiología, ya que no se conocen mutaciones genéticas específicas relacionadas con esta forma<sup>80</sup>, por lo que su investigación se ha centrado en la diferenciación de nDAs derivadas de iPSCs de pacientes con EP esporádica<sup>90</sup>.

Líneas celulares relacionadas con la EP pueden encontrarse en diversos bancos celulares (tabla 3). Se han realizado varios trabajos de investigación utilizando estos métodos, donde se creó una biblioteca con más de 60 líneas iPSC utilizando el método de reprogramación celular con 3 vectores diferentes: lentivirus, retrovirus y virus Sendai<sup>91,92</sup>.

Estudios realizados con iPSC en modelos murinos han demostrado la misma potencia y eficacia que las nDA obtenidas de tejido fetal, ya que muestran una alta capacidad de crecimiento axonal específico a larga distancia, una

**Tabla 2** Modelos genéticos de iPSC de la enfermedad de Parkinson. Efectos generados por alteraciones de genes involucrados en la patogénesis de la enfermedad de Parkinson en modelos utilizando iPSC

Gen alterado	Efecto	Ref.
SNCA	Acumulación o sobreexpresión de la proteína $\alpha$ -sinucleína en las nDA	Byers et al. <sup>84</sup>
LRRK2	Reducción del crecimiento de las neuritas Aumento del estrés oxidativo Deterioro de la capacidad de autorrenovación y diferenciación neuronal de iPSCs	Shi et al. <sup>85</sup>
PINK1/PARKIN	Fenotipos anormales de mitofagia y autofagia Mayor vulnerabilidad al estrés	Shaltouki et al. <sup>86</sup> , Pickrell y Youle <sup>87</sup>
GBA1	Altos niveles de $\alpha$ -sinucleína, autofagia, defectos lisosomales, desbalance en la homeostasis del calcio, reducción de la toma y almacenamiento de dopamina	Schöndorf et al. <sup>83</sup>

**Tabla 3** Cuadro demostrativo de algunas instituciones de bancos celulares. Existen varias instituciones que brindan la función de almacenamiento de líneas celulares alrededor del mundo, algunas de las más conocidas se encuentran descritas en el siguiente cuadro, señalando la cantidad de iPSC disponibles y aquellas relacionadas con la enfermedad de Parkinson

Institución	Siglas	Líneas de iPSC	Líneas relacionadas con Parkinson
American Type Culture Collection	ATCC	82	14
European Bank for Induced pluripotent Stem Cells	EBiSC	893	94
Applied Stem Cell	ASC	106	5
Coriell Institute for Medical Research	-----	132	3
Human Induced Pluripotent Stem Cell Initiative	HipSci	3.318	0
Harvard University iPS Core Facility	HSCI	11	0
New York Stem Cell Foundation	NYSCF	60+	Dato no disponible

Existen varias instituciones que brindan la función de almacenamiento de líneas celulares alrededor del mundo, algunas de las más conocidas se encuentran descritas en esta tabla, señalando la cantidad de iPSC disponibles y aquellas relacionadas con la enfermedad de Parkinson.

diferenciación rápida, eficiente y sincronizada, evitando la formación de tumores<sup>93</sup>. Recientemente, se ha demostrado que estas células apoyan la recuperación funcional de los déficits inducidos por lesiones, posicionando a las iPSC como el futuro de la investigación de una amplia gama de enfermedades<sup>8</sup>.

Los modelos celulares de crecimiento en monocapa fueron los primeros en ser desarrollados, con el objetivo de estudiar los mecanismos celulares y moleculares individualmente<sup>52</sup>. Sin embargo, pueden no ser completamente representativos de la complejidad de las enfermedades neurodegenerativas, por lo que se ha recurrido a métodos de cocultivo y modelos 3D (tabla 4)<sup>77</sup>. El método de cocultivo ha generado buenos avances al generar un ambiente en el que 2 tipos celulares, como astrocitos y neuronas, mimetizan de manera similar al fisiológico la actividad celular, al presentarse interacciones intercelulares y una matriz extracelular mixta<sup>52</sup>. Ya que los astrocitos brindan soporte estructural y metabólico a las neuronas<sup>80</sup>, se ha observado un aumento en el ritmo de maduración de las neuronas, mayor cantidad de marcadores neurales y estabilización de la función mitocondrial al disminuir la producción de especies reactivas de oxígeno<sup>94</sup>. La desventaja de este método es la limitación de los

linajes celulares a utilizar y la necesidad de optimizar las condiciones de cultivo funcionales para ambas<sup>77</sup>.

Una de las nuevas tendencias de investigación es la generación de organoides 3D y neuroesferas utilizando iPSC, ya que presentan las ventajas de que las células iPSC se diferencian de manera más espontánea, en un periodo de uno a 2 meses, en tipos neuronales funcionales, mimetizando de mejor manera el desarrollo del cerebro, así como las neuropatologías<sup>95,96</sup>. Los organoides pueden conservarse en cultivo hasta por un año, a pesar de que a los 6 meses comienzan a encogerse<sup>97</sup>. Dentro de las limitaciones que presentan se incluyen las restricciones de tamaño, la ausencia de vascularización, su corta duración, la formación de un centro necrótico, la imprecisión en la identificación de las regiones cerebrales, la variabilidad por lote y su dificultad técnica<sup>98</sup>. Estos modelos también son utilizados para estudiar los mecanismos fisiológicos de la EP, posibles tratamientos y el desarrollo de la medicina personalizada<sup>99</sup>. Finalmente tenemos los modelos de *organ-on-a-chip* utilizando iPSC, que consisten en un sistema microfisiológico *in vitro* donde varios organoides son cultivados de manera que a través de un flujo líquido se genere un contacto intercelular para mimetizar las condiciones fisiológicas del cuerpo, incluyendo interacciones célula-célula y célula-matriz; este



**Tabla 4** Modelos de la enfermedad de Parkinson. Comparación de diferentes modelos con iPSCs de la enfermedad de Parkinson con sus respectivas ventajas y desventajas

Modelo	Ventaja	Desventaja	Ref.
Monocapa	Habilidad de autorrenovación Capacidad de diferenciarse hacia diferentes tejidos y células Reproducibile Evasión de conflictos éticos por el uso de células troncales embrionarias Acceso a neuronas de individuos afectados Generadas desde células somáticas Potencial de generar tratamientos personalizados Susceptibles a modificación genética y creación de líneas celulares isogénicas	Cultivo <i>in vitro</i> fuera del ambiente fisiológico cerebral <i>in vivo</i>	Chang et al. <sup>77]</sup>
Cocultivo	Simulación de la función fisiológica Mejor maduración celular	Limitado a 2 linajes celulares Requiere optimizar condiciones de cultivo y medio para ambos tipos celulares	Chang et al. <sup>77</sup>
Neuroesferas	Representan algunos fenotipos neuropatológicos como la acumulación	Agregados celulares sin organización anatómica específica	Mohamed et al. <sup>44</sup>
Organoides	Diferentes linajes celulares mezclados Organización y funcionamiento celular fisiológico optimizado Células funcionales presentando actividad eléctrica	Alta complejidad de análisis No se ha observado conexión entre múltiples regiones cerebrales Restricciones de tamaño Ausencia de vascularización Formación de un centro necrótico	Jo et al. <sup>95</sup> , Lancaster et al. <sup>96</sup> , Liu et al. <sup>99</sup>
<i>Organ-on-a-chip</i>	Modelo con mayor similitud a las condiciones fisiológicas Diversos órganos en comunicación Mimetiza las interacciones célula-célula y célula-matriz	Aún se encuentra en etapas tempranas de desarrollo	Mohamed et al. <sup>44</sup>

Fuente: Mohamed et al.<sup>44</sup>

modelo se encuentra en etapas tempranas de desarrollo y representa un descubrimiento prometedor<sup>44</sup>.

### Ventajas de las células troncales pluripotentes inducidas sobre otros modelos

Las CT pueden ser destinadas a diferenciarse hacia nDA de la SNPC para modelar la EP a nivel celular. Sin embargo, las iPSCs presentan la ventaja de que las células son específicas de los pacientes, evitando así la necesidad de utilizar inmunosupresores al realizar trasplantes y el sacrificio humano para la obtención de células troncales embrionarias, además de la posibilidad de corregir genéticamente las células para producir fenotipos funcionales<sup>100</sup>. El proceso de diferenciación de iPSC a nDA mimetiza el desarrollo embrionario de estas células, se conserva la maquinaria celular endógena y los mecanismos de transcripción<sup>101</sup>. Adicionalmente se evita el uso de neurotoxinas, manteniendo un desarrollo natural de la enfermedad sin estímulos estresores externos<sup>10</sup>.

Dentro de las áreas a mejorar en la investigación en edición genética está la diferenciación óptima de nDA, que

depende de reguladores moleculares de la función y estabilidad de las proteínas involucradas en la EP<sup>102</sup>. Las técnicas más utilizadas para realizar modificaciones genéticas todavía presentan varias limitaciones, dentro de las cuales se incluyen: 1) la unión de extremos no homólogos, propensa a errores que pueden resultar en la inestabilidad del genoma y mutaciones causantes de enfermedades<sup>103</sup>; 2) la recombinación dirigida por homología utilizando ZFN o TALEN, presenta problemas de capacidad de focalización debido a la disponibilidad de bibliotecas para ZFN, además de la complejidad y el tamaño de los vectores requeridos para TALEN<sup>104</sup>; y 3) CRISPR-Cas9 ha tenido una gran explosión de avances, pero al ser una técnica nueva aún requiere estudiar las enzimas Cas9 para su correcta dirección<sup>105</sup>. La mejora de las técnicas de edición de genes en tejidos específicos y poblaciones de células *in vivo* sigue siendo uno de los principales retos para la terapia génica humana segura y eficaz<sup>106</sup>.

Una de las dificultades de la terapia celular a través de trasplantes es la formación de cuerpos de Lewy con el paso de tiempo, con la reaparición de los síntomas motores. Esta desventaja puede ser superada utilizando la nueva tecnología de CRISPR/Cas9, con la que se desarrollaron nDAs derivadas de iPSCs a las que se les realizó una delección en el gen SNCA, que al estar en contacto con fibrillas preformadas

de  $\alpha$ -sinucleína presentan resistencia a la formación de agregados de esta proteína de manera permanente<sup>50</sup>.

En 2018 se inició la primera terapia para la EP trasplantando precursores de nDA derivadas de iPSC en la SNPc del cerebro. Para este procedimiento se seleccionaron 7 pacientes con un nivel de Parkinson moderado, el primer paciente no ha mostrado efectos adversos y, de continuar así, se espera proseguir con el resto de los pacientes el presente año<sup>107,108</sup>. Antes de proseguir con los estudios clínicos en pacientes humanos realizaron pruebas en ratones para analizar la tumorigenicidad, toxicidad, biodistribución de las nDA obtenidas y formación de teratomas, adicionalmente se observó en ratas lesionadas con la neurotoxina 6-OHDA la disminución de movimientos asimétricos rotacionales hasta niveles normales y finalmente comprobaron la supervivencia de los trasplantes neuronales, sin efectos secundarios en primates no humanos<sup>109</sup>. Este proyecto representa un gran paso en el desarrollo de tratamientos de la EP, que en caso de ser exitoso abre las puertas a un nuevo futuro como tratamiento.

Actualmente se encuentran 2 estudios clínicos en progreso registrados en el instituto nacional de salud (NIH) para investigar la aplicación de iPSC en pacientes con la EP. El Centro Clínico de los Institutos Nacionales de Salud (CC) (Instituto Nacional del Corazón, Pulmones y Sangre), identificado en [clinicaltrials.gov](http://clinicaltrials.gov) con el registro NCT01143454, inició un proyecto de pruebas clínicas desde junio de 2010 que continúa hasta la fecha, nombrado «Caracterización de pacientes con presentaciones infrecuentes y/o enfermedades poco frecuentes asociadas al sistema cardiovascular». El objetivo consiste en caracterizar la etiología molecular, fisiopatología y la historia de enfermedades poco comunes conocidas y desconocidas, entre ellas la EP, que se presentan con síntomas y signos asociados al riesgo de disfunción cardiovascular manifiesta o potencial, haciendo uso de material biológico y recolecta de tejidos, para perfeccionar los protocolos de diagnóstico<sup>110</sup>.

El segundo estudio titulado «Desarrollo de iPS a partir de células somáticas donadas de pacientes con enfermedades neurológicas», realizado desde abril de 2009 hasta la fecha por la organización médica Hadassah, identificado en [clinicaltrials.gov](http://clinicaltrials.gov) bajo el registro NCT00874783, tiene como propósito desarrollar células iPS humanas a partir de cultivos celulares de biopsias de piel o del cabello de pacientes a través de la expresión forzada de factores de transcripción. Principalmente serán empleadas para modelar enfermedades neurodegenerativas como la EP, probar fármacos, generar información importante para la investigación básica y el desarrollo de tecnología que eventualmente permita el uso de células iPS para futuras terapias de trasplantes<sup>111</sup>.

Los modelos preclínicos basados en iPSC presentan algunas limitaciones, como el mejoramiento de la estandarización de los protocolos de obtención, reprogramación, diferenciación, seguridad y aplicación a pacientes, el potencial de formación de tumores y teratomas, la necesidad de desarrollar métodos de inducción con tecnología no integrativa a ADN más eficientes y rápidos<sup>112</sup>. A pesar de estas limitaciones, los modelos con iPSCs actualmente representan la mayor similitud a la EP fenotípicamente, permite estudiar los efectos celulares de mutaciones en tiempo real, cuantificar efectos del estrés oxidativo

celular y mitocondrial y analizar fármacos o moléculas con potencial neuroprotector<sup>10,113–116</sup>.

## Discusión o perspectivas

La EP es un trastorno de interés mundial del cual no se conoce exactamente su etiología, al ser principalmente multifactorial en el tipo esporádico, ni se cuenta con terapias efectivas para el tratamiento de la enfermedad. A pesar de que los medicamentos disponibles aumentan la producción de dopamina en las neuronas dopaminérgicas en la SNPc del cerebro, solo disminuyen los síntomas de la enfermedad, pero no reducen o previenen la progresión de la EP.

Las iPSC pueden proporcionar un modelo fundamental para la investigación de enfermedades neurodegenerativas como el Parkinson y probar posibles fármacos para su tratamiento. Las neuronas dopaminérgicas derivadas de iPSC son capaces de reproducir el desarrollo de la EP con el fin de estudiar la progresión de la enfermedad y detectar posibles marcadores moleculares que funcionen como indicadores para su oportuno diagnóstico. Además de brindar una amplia gama de opciones para desarrollar los modelos, ya sea desde un enfoque toxicológico o genético, *in vitro*, *in vivo* o cocultivo y, en caso de ser necesario, varias especies animales disponibles.

Es necesario resaltar que aún es necesario perfeccionar los estándares requeridos para el uso de iPSCs en trasplantes como tratamiento de la EP, ya sea para fines de investigación o aplicaciones clínicas. Uno de los grandes retos a los que se enfrentan los modelos en iPSCs es que la enfermedad de Parkinson se presenta principalmente en la población de la tercera edad, y al reprogramar las células somáticas se genera un estado similar al embrionario, por lo que se deben reproducir estas características de la senescencia neuronal en el modelo *in vitro*.

Sin embargo, con las herramientas de modificaciones epigenéticas, de cromatina y regulación genómica de genes relevantes para la EP, los modelos de iPSC avanzan hacia la medicina personalizada. Líneas celulares de pacientes pueden ser generadas a partir de células somáticas, evaluando cuestiones éticas relacionadas con el uso de células troncales embrionarias, además de la posibilidad de probar medicamentos de forma específica a pacientes de manera *in vitro*.

## Financiación

Este trabajo fue apoyado por fondos del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT; No. 300638, 271307 y FODECIJAL; No. 8084-2019).

## Conflicto de intereses

Ninguno.

## Bibliografía

1. Martínez-Fernández R, Gasca-Salas C, Sánchez Ferro A, Obeso JA. Actualización en la enfermedad de parkinsonparkinson's disease: A review. *Rev Med Clin Condes*. 2016;27:363–79, <http://dx.doi.org/10.1016/j.rmclc.2016.06.010>.
2. Elias WJ, Huss D, Voss T, Loomba J, Khaled M, Zadicario E, et al. A pilot study of focused ultrasound thalamotomy for essential tremor. *N Engl J Med*. 2013;369:640–8, <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa1300962>.
3. Rizke P, Kumar N, Jog MS. An update on the diagnosis and treatment of Parkinson disease. *CMAJ*. 2016;188:1157–65, <http://dx.doi.org/10.1503/cmaj.151179>.
4. Eriksen JL, Wszolek Z, Petrucelli L. Molecular pathogenesis of Parkinson disease. *Arch Neurol*. 2005;62:353–7, <http://dx.doi.org/10.1001/archneur.62.3.353>.
5. Tolosa E, Compta Y, Gaig C. The premotor phase of Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord*. 2007;13 Suppl:S2–7, <http://dx.doi.org/10.1016/j.parkreldis.2007.06.007>.
6. Ferreira JJ, Katzenschlager R, Bloem BR, Bonuccelli U, Burn D, Deuschl G, et al. Summary of the recommendations of the EFNS/MDS-ES review on therapeutic management of Parkinson's disease. *Eur J Neurol*. 2013;20:5–15, <http://dx.doi.org/10.1111/j.1468-1331.2012.03866.x>.
7. Hornykiewicz O. 50 years of levodopa. *Mov Disord*. 2015;30:1008, <http://dx.doi.org/10.1002/mds.26240>.
8. Barker RA, Drouin-Ouellet J, Parmar M. Cell-based therapies for Parkinson disease—past insights and future potential. *Nat Rev Neurol*. 2015;11:492–503, <http://dx.doi.org/10.1038/nrneurol.2015.123>.
9. Juri CC, Chaná CP. Levodopa en la enfermedad de Parkinson: ¿Qué hemos aprendido? [Levodopa for Parkinson's disease: What have we learned?]. *Rev Med Chil*. 2006;134:893–901, <http://dx.doi.org/10.4067/s0034-98872006000700014>.
10. Stoddard-Bennett T, Reijo Pera R. Treatment of Parkinson's disease through personalized medicine and induced pluripotent stem cells. *Cells*. 2019;8:26, <http://dx.doi.org/10.3390/cells8010026>.
11. Kin K, Yasuhara T, Kameda M, Date I. Animal models for Parkinson's disease research: Trends in the 2000s. *Int J Mol Sci*. 2019;20:5402, <http://dx.doi.org/10.3390/ijms20215402>.
12. Cuenca-Alcañiz J, Gonzalez-Sanchez M. Modelos animales de enfermedad de Parkinson. Facultad de farmacia, universidad complutense. 2016. Trabajo fin de grado. 49156.
13. Blesa J, Phani S, Jackson-Lewis V, Przedborski S. Classic and new animal models of Parkinson's disease. *J Biomed Biotechnol*. 2012;2012:845618, <http://dx.doi.org/10.1155/2012/845618>.
14. Blesa J, Przedborski S. Parkinson's disease: animal models and dopaminergic cell vulnerability. *Front Neuroanat*. 2014;8:155, <http://dx.doi.org/10.3389/fnana.2014.00155>.
15. Crocker SJ, Hayley SP, Smith PD, Mount MP, Lamba WR, Callaghan SM, et al. Regulation of axotomy-induced dopaminergic neuron death and c-Jun phosphorylation by targeted inhibition of cdc42 or mixed lineage kinase. *J Neurochem*. 2006;96:489–99, <http://dx.doi.org/10.1111/j.1471-4159.2005.03568.x>.
16. Bankiewicz K, Sanchez-Pernaute R, Oiwa Y, Kohutnicka M, Cummins A, Eberling J. Preclinical models of neurologic and psychiatric disorders. *Curr Protoc Neurosci*. 1999;9, <http://dx.doi.org/10.1002/0471142301.ns0904s09>.
17. Shukla AK, Ratnasekhar C, Pragma P, Chaouhan HS, Patel DK, Chowdhuri DK, et al. Metabolomic analysis provides insights on paraquat-induced parkinson-like symptoms in *Drosophila melanogaster*. *Mol Neurobiol*. 2016;53:254–69, <http://dx.doi.org/10.1007/s12035-014-9003-3>.
18. Braungart E, Gerlach M, Riederer P, Baumeister R, Hoener MC. Caenorhabditis elegans MPP+ model of Parkinson's disease for high-throughput drug screenings. *Neurodegener Dis*. 2004;1(4-5):175–83, <http://dx.doi.org/10.1159/000080983>.
19. Reckziegel P, Chen P, Caito S, Gubert P, Soares FA, Fachinnetto R, et al. Extracellular dopamine and alterations on dopamine transporter are related to reserpine toxicity in Caenorhabditis elegans. *Arch Toxicol*. 2016;90:633–45, <http://dx.doi.org/10.1007/s00204-015-1451-7>.
20. Zeng XS, Geng WS, Jia JJ. Neurotoxin-induced animal models of Parkinson disease: Pathogenic mechanism and assessment. *ASN Neurol*. 2018;10, <http://dx.doi.org/10.1177/1759091418777438>, 1759091418777438.
21. Hu ZY, Chen B, Zhang JP, Ma YY. Up-regulation of autophagy-related gene 5 (ATG5) protects dopaminergic neurons in a zebrafish model of Parkinson's disease. *J Biol Chem*. 2017;292:18062–74, <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M116.764795>.
22. Wang X, Saegusa H, Huntula S, Tanabe T. Blockade of microglial Cav1.2 Ca<sup>2+</sup> channel exacerbates the symptoms in a Parkinson's disease model. *Sci Rep*. 2019;9:9138, <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-019-45681-3>. Published 2019 Jun 24.
23. Grandi LC, Di Giovanni G, Galati S. Animal models of early-stage Parkinson's disease and acute dopamine deficiency to study compensatory neurodegenerative mechanisms. *J Neurosci Methods*. 2018;308:205–18, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jneumeth.2018.08.012>.
24. Miyazaki I, Isooka N, Imafuku F, Sun J, Kikuoka R, Furukawa C, et al. Chronic systemic exposure to low-dose rotenone induced central and peripheral neuropathology and motor deficits in mice: Reproducible animal model of Parkinson's disease. *Int J Mol Sci*. 2020;21:3254, <http://dx.doi.org/10.3390/ijms21093254>.
25. Taylor TN, Greene JG, Miller GW. Behavioral phenotyping of mouse models of Parkinson's disease. *Behav Brain Res*. 2010;211:1–10, <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2010.03.004>.
26. Hsueh SC, Chen KY, Lai JH, Wu CC, Yu YW, Luo Y, et al. Voluntary physical exercise improves subsequent motor and cognitive impairments in a rat model of Parkinson's disease. *Int J Mol Sci*. 2018;19:508, <http://dx.doi.org/10.3390/ijms19020508>. Published 2018 Feb 8.
27. Hallett PJ, Deleidi M, Astradsson A, Smith GA, Cooper O, Osborn TM, et al. Successful function of autologous iPSC-derived dopamine neurons following transplantation in a non-human primate model of Parkinson's disease. *Cell Stem Cell*. 2015;16:269–74, <http://dx.doi.org/10.1016/j.stem.2015.01.018>.
28. Gómez-Chavarrín M, Díaz-Pérez R, Morales-Espinosa R, Fernández-Ruiz J, Roldán-Roldán G, Torner C. Efecto de la exposición al pesticida rotenona sobre el desarrollo del sistema dopaminérgico nigroestriatal en ratas. *Salud Mental*. 2013;36:1–8, <http://dx.doi.org/10.17711/SM.0185-3325.2013.001>.
29. Sherer TB, Kim JH, Betarbet R, Greenamyre JT. Subcutaneous rotenone exposure causes highly selective dopaminergic degeneration and alpha-synuclein aggregation. *Exp Neurol*. 2003;179:9–16, <http://dx.doi.org/10.1006/exnr.2002.8072>.
30. Spivey A. Rotenone and paraquat linked to Parkinson's disease: Human exposure study supports years of animal studies. *Environ Health Perspect*. 2011;119:A259, <http://dx.doi.org/10.1289/ehp.119-a259a>.
31. Collantes M, Peñuelas I, Alvarez-Erviti L, Blesa J, Martí-Clement JM, Quincoes G, et al. Utilización de la 11C-(+)-alpha

- dihidrotetabenazina para la evaluación de la innervación dopaminérgica en modelos animales de la enfermedad de Parkinson [Use of 11C-(+)-alpha -dihydrotetabenazine for the assessment of dopaminergic innervation in animal models of Parkinson's disease]. *Rev Esp Med Nucl.* 2008;27:103–11.
32. Blandini F, Armentero MT, Martignoni E. The 6-hydroxydopamine model: news from the past. *Parkinsonism Relat Disord.* 2008;14(Suppl 2):S124–9, <http://dx.doi.org/10.1016/j.parkreldis.2008.04.015>.
  33. Annett LE, Rogers DC, Hernandez TD, Dunnett SB. Behavioural analysis of unilateral monoamine depletion in the marmoset. *Brain.* 1992;115(Pt 3):825–56, <http://dx.doi.org/10.1093/brain/115.3.825>.
  34. Dunnett SB, Lelos M. Behavioral analysis of motor and non-motor symptoms in rodent models of Parkinson's disease. *Prog Brain Res.* 2010;184:35–51, [http://dx.doi.org/10.1016/S0079-6123\(10\)84003-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0079-6123(10)84003-8).
  35. Dauer W, Przedborski S. Parkinson's disease: Mechanisms and models. *Neuron.* 2003;39:889–909, [http://dx.doi.org/10.1016/s0896-6273\(03\)00568-3](http://dx.doi.org/10.1016/s0896-6273(03)00568-3).
  36. Decressac M, Mattsson B, Lundblad M, Weikop P, Björklund A. Progressive neurodegenerative and behavioural changes induced by AAV-mediated overexpression of  $\alpha$ -synuclein in midbrain dopamine neurons. *Neurobiol Dis.* 2012;45:939–53, <http://dx.doi.org/10.1016/j.nbd.2011.12.013>.
  37. Milosevic J, Schwarz SC, Ogunlade V, Meyer AK, Storch A, Schwarz J. Emerging role of LRRK2 in human neural progenitor cell cycle progression, survival and differentiation. *Mol Neurodegener.* 2009;4:25, <http://dx.doi.org/10.1186/1750-1326-4-25>.
  38. Hinkle KM, Yue M, Behrouz B, Dächsel JC, Lincoln SJ, Bowles EE, et al. LRRK2 knockout mice have an intact dopaminergic system but display alterations in exploratory and motor co-ordination behaviors. *Mol Neurodegener.* 2012;7:25, <http://dx.doi.org/10.1186/1750-1326-7-25>.
  39. Chen CY, Weng YH, Chien KY, Lin KJ, Yeh TH, Cheng YP, et al. G2019S LRRK2 activates MKK4-JNK pathway and causes degeneration of SN dopaminergic neurons in a transgenic mouse model of PD. *Cell Death Differ.* 2012;19:1623–33, <http://dx.doi.org/10.1038/cdd.2012.42>.
  40. Gispert S, Ricciardi F, Kurz A, Azizov M, Hoepken HH, Becker D, et al. Parkinson phenotype in aged PINK1-deficient mice is accompanied by progressive mitochondrial dysfunction in absence of neurodegeneration. *PLoS One.* 2009;4:e5777, <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0005777>.
  41. Obeso JA, Stamelou M, Goetz CG, Poewe W, Lang AE, Weintraub D, et al. Past, present, and future of Parkinson's disease: A special essay on the 200th Anniversary of the Shaking Palsy. *Mov Disord.* 2017;32:1264–310, <http://dx.doi.org/10.1002/mds.27115>.
  42. Vanhauwaert R, Verstreken P. Flies with Parkinson's disease. *Exp Neurol.* 2015;274(Pt A):42–51, <http://dx.doi.org/10.1016/j.expneurol.2015.02.020>.
  43. Kitada T, Pisani A, Karouani M, Haburcak M, Martella G, Tschertner A, et al. Impaired dopamine release and synaptic plasticity in the striatum of parkin<sup>-/-</sup> mice. *J Neurochem.* 2009;110:613–21, <http://dx.doi.org/10.1111/j.1471-4159.2009.06152.x>.
  44. Mohamed NV, Larroquette F, Beitel LK, Fon EA, Durcan TM. One step into the future: New iPSC tools to advance research in Parkinson's disease and neurological disorders. *J Parkinsons Dis.* 2019;9:265–81, <http://dx.doi.org/10.3233/JPD-181515>.
  45. Chen W, Huang Q, Ma S, Li M. Progress in dopaminergic cell replacement and regenerative strategies for Parkinson's disease. *ACS Chem Neurosci.* 2019;10:839–51, <http://dx.doi.org/10.1021/acchemneuro.8b00389>.
  46. Pardal R, López-Barneo J. Neural stem cells and transplantation studies in Parkinson's disease. *Adv Exp Med Biol.* 2012;741:206–16, [http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4614-2098-9\\_14](http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4614-2098-9_14).
  47. Fukaya C, Yamamoto T. Deep brain stimulation for Parkinson's disease: recent trends and future direction. *Neurol Med Chir (Tokyo).* 2015;55:422–31, <http://dx.doi.org/10.2176/nmc.ra.2014-0446>.
  48. Lindvall O, Björklund A. Cell therapy in Parkinson's disease. *NeuroRx.* 2004;1:382–93, <http://dx.doi.org/10.1602/neurorx.1.4.382>.
  49. Lindvall O, Rehnström S, Brundin P, Gustavii B, Astedt B, Widner H, et al. Human fetal dopamine neurons grafted into the striatum in two patients with severe Parkinson's disease. A detailed account of methodology and a 6-month follow-up. *Arch Neurol.* 1989;46:615–31, <http://dx.doi.org/10.1001/archneur.1989.00520420033021>.
  50. Chen Y, Dolt KS, Kriek M, Baker T, Downey P, Drummond NJ, et al. Engineering synucleinopathy-resistant human dopaminergic neurons by CRISPR-mediated deletion of the SNCA gene. *Eur J Neurosci.* 2019;49:510–24, <http://dx.doi.org/10.1111/ejn.14286>.
  51. Park CH, Minn YK, Lee JY, Choi DH, Chang MY, Shim JW, et al. In vitro and in vivo analyses of human embryonic stem cell-derived dopamine neurons. *J Neurochem.* 2005;92:1265–76, <http://dx.doi.org/10.1111/j.1471-4159.2004.03006.x>.
  52. Madrazo I, Franco-Bourland R, Aguilera M, Ostrosky-Solis F, Madrazo M, Cuevas C, et al. Autologous adrenal medullary, fetal mesencephalic, and fetal adrenal brain transplantation in Parkinson's disease: A long-term postoperative follow-up. *J Neural Transplant Plast.* 1991;2(3-4):157–64, <http://dx.doi.org/10.1155/NP.1991157>.
  53. 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;46:487–91, <http://dx.doi.org/10.1001/archneur.1989.00520410021016>.
  54. Madrazo I, Drucker-Colín R, Díaz V, Martínez-Mata J, Torres C, Becerril JJ. Open microsurgical autograft of adrenal medulla to the right caudate nucleus in two patients with intractable Parkinson's disease. *N Engl J Med.* 1987;316:831–4, <http://dx.doi.org/10.1056/NEJM198704023161402>.
  55. Arenas E. Engineering a dopaminergic phenotype in stem/precursor cells: role of Nurr1, glia-derived signals, and Wnts. *Ann N Y Acad Sci.* 2005;1049:51–66, <http://dx.doi.org/10.1196/annals.1334.007>.
  56. Kopyov OV, Jacques DS, Lieberman A, Duma CM, Rogers RL. Outcome following intrastriatal fetal mesencephalic grafts for Parkinson's patients is directly related to the volume of grafted tissue. *Exp Neurol.* 1997;146:536–45, <http://dx.doi.org/10.1006/exnr.1997.6577>.
  57. 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;52:628–34, <http://dx.doi.org/10.1002/ana.10359>.
  58. Olson L, Seiger A. Brain tissue transplanted to the anterior chamber of the eye 1. Fluorescence histochemistry of immature catecholamine and 5-hydroxytryptamine neurons reinnervating the rat iris. *Z Zellforsch Mikrosk Anat.* 1972;135:175–94, <http://dx.doi.org/10.1007/BF00315125>.
  59. Mirzadeh Z, Merkle FT, Soriano-Navarro M, Garcia-Verdugo JM, Alvarez-Buylla A. Neural stem cells confer unique pinwheel architecture to the ventricular surface in neurogenic regions of the adult brain. *Cell Stem Cell.* 2008;3:265–78, <http://dx.doi.org/10.1016/j.stem.2008.07.004>.
  60. Fairless R, Barnett SC. Olfactory ensheathing cells: their role in central nervous system repair. *Int J Biochem Cell Biol.* 2005;37:693–9, <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocel.2004.10.010>.



61. Gómez-Pinedo U, Videira S, Sancho FJ, García-Verdugo JM, Matías-Guiu J, Barcia JA. Olfactory ensheathing glia enhances reentry of axons into the brain from peripheral nerve grafts bridging the substantia nigra with the striatum. *Neurosci Lett*. 2011;494:104–8, <http://dx.doi.org/10.1016/j.neulet.2011.02.068>.
62. López-Barneo J, Pardal R, Ortega-Sáenz P, Durán R, Villadiego J, Toledo-Aral JJ. The neurogenic niche in the carotid body and its applicability to antiparkinsonian cell therapy. *J Neural Transm (Vienna)*. 2009;116:975–82, <http://dx.doi.org/10.1007/s00702-009-0201-5>.
63. Pardal R, Ortega-Sáenz P, Durán R, López-Barneo J. Glia-like stem cells sustain physiologic neurogenesis in the adult mammalian carotid body. *Cell*. 2007;131:364–77, <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2007.07.043>.
64. 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;23:141–8, <http://dx.doi.org/10.1523/JNEUROSCI.23-01-00141.2003>.
65. Luquin MR, Montoro RJ, Guillén 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;22:743–50, [http://dx.doi.org/10.1016/S0896-6273\(00\)80733-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0896-6273(00)80733-3).
66. Xiao B, Ng HH, Takahashi R, Tan EK. Induced pluripotent stem cells in Parkinson's disease: Scientific and clinical challenges. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2016;87:697–702, <http://dx.doi.org/10.1136/jnnp-2015-312036>.
67. Barker RA, Kuan WL. Graft-induced dyskinesias in Parkinson's disease: What is it all about? *Cell Stem Cell*. 2010;7:148–9, <http://dx.doi.org/10.1016/j.stem.2010.07.003>.
68. Anzaldúa S, Juárez M, Villaseñor H, Ríos MC, Cornejo MA, Meraz MA. ¿Qué son las células troncales o «células madre»? *Vet México*. 2006;38:81–104.
69. Gepstein L. Derivation and potential applications of human embryonic stem cells. *Circ Res*. 2002;91:866–76, <http://dx.doi.org/10.1161/01.res.0000041435.95082.84>.
70. Maeshak D, Gardner R, Gottlieb D. *Stem Cell Biology*. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press; 2001.
71. Fleifel D, Rahmoon MA, ALOkda A, Nasr M, Else-ráfy M, El-Khamisy SF. Recent advances in stem cells therapy: A focus on cancer Parkinson's and Alzheimer's. *J Genet Eng Biotechnol*. 2018;16:427–32, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jgeb.2018.09.002>.
72. Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell*. 2006;126:663–76, <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2006.07.024>.
73. Kimmelman J, Heslop HE, Sugarman J, Studer L, Benvenisty N, Caulfield T, et al. New ISSCR guidelines: Clinical translation of stem cell research. *Lancet*. 2016;387:1979–81, [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)30390-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(16)30390-7).
74. Laperte AH, Sances S, Yucer N, Dardov VJ, Garcia VJ, Ho R, et al. iPSC modeling of young-onset Parkinson's disease reveals a molecular signature of disease and novel therapeutic candidates. *Nat Med*. 2020;26:289–99, <http://dx.doi.org/10.1038/s41591-019-0739-1>.
75. Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, Narita M, Ichisaka T, Tomoda K, et al. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell*. 2007;131:861–72, <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2007.11.019>.
76. Kirkeby A, Grealish S, Wolf DA, Nelander J, Wood J, Lundblad M, et al. Generation of regionally specified neural progenitors and functional neurons from human embryonic stem cells under defined conditions. *Cell Rep*. 2012;1:703–14, <http://dx.doi.org/10.1016/j.celrep.2012.04.009>.
77. Chang CY, Ting HC, Liu CA, Su HL, Chiou TW, Harn HJ, et al. Induced pluripotent stem cells: A powerful neurodegenerative disease modeling tool for mechanism study and drug discovery. *Cell Transplant*. 2018;27:1588–602, <http://dx.doi.org/10.1177/0963689718775406>.
78. Soldner F, Hockemeyer D, Beard C, Gao Q, Bell GW, Cook EG, et al. Parkinson's disease patient-derived induced pluripotent stem cells free of viral reprogramming factors. *Cell*. 2009;136:964–77, <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2009.02.013>.
79. Cai R, Zhang Y, Simmering JE, Schultz JL, Li Y, Fernandez-Carasa I, et al. Enhancing glycolysis attenuates Parkinson's disease progression in models and clinical databases. *J Clin Invest*. 2019;129:4539–49, <http://dx.doi.org/10.1172/JCI129987>.
80. Ke M, Chong CM, Su H. Using induced pluripotent stem cells for modeling Parkinson's disease. *World J Stem Cells*. 2019;11:634–49, <http://dx.doi.org/10.4252/wjsc.v11.i9.634>.
81. Poewe W, Seppi K, Tanner CM, Halliday GM, Brundin P, Volkman J, et al. Parkinson disease. *Nat Rev Dis Primers*. 2017;3:17013, <http://dx.doi.org/10.1038/nrdp.2017.13>.
82. Shi Y, Kirwan P, Livesey FJ. Directed differentiation of human pluripotent stem cells to cerebral cortex neurons and neural networks. *Nat Protoc*. 2012;7:1836–46, <http://dx.doi.org/10.1038/nprot.2012116>.
83. Schöndorf DC, Aureli M, McAllister FE, Hindley CJ, Mayer F, Schmid B, et al. iPSC-derived neurons from GBA1-associated Parkinson's disease patients show autophagic defects and impaired calcium homeostasis. *Nat Commun*. 2014;5:4028, <http://dx.doi.org/10.1038/ncomms5028>.
84. Byers B, Cord B, Nguyen HN, Schüle B, Fenno L, Lee PC, et al. Triplication Parkinson's patient's iPSC-derived SNCADA. Neurons accumulate  $\alpha$ -synuclein and are susceptible to oxidative stress. *PLoS One*. 2011;6:e26159, <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0026159>.
85. Liu GH, Qu J, Suzuki K, Nivet E, Li M, Montserrat N, et al. Progressive degeneration of human neural stem cells caused by pathogenic LRRK2. *Nature*. 2012;491:603–7, <http://dx.doi.org/10.1038/nature11557>.
86. Shaltouki A, Sivapatham R, Pei Y, Gerencser AA, Momčilović O, Rao MS, et al. Mitochondrial alterations by PARKIN in dopaminergic neurons using PARK2 patient-specific and PARK2 knockout isogenic iPSC lines. *Stem Cell Reports*. 2015;4:847–59, <http://dx.doi.org/10.1016/j.stemcr.2015.02.019>.
87. Pickrell AM, Youle RJ. The roles of PINK1, parkin, and mitochondrial fidelity in Parkinson's disease. *Neuron*. 2015;85:257–73, <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuron.2014.12.007>.
88. Fernández-Santiago R, Carballo-Carbajal I, Castellano G, Torrent R, Richaud Y, Sánchez-Danés A, et al. Aberrant epigenome in iPSC-derived dopaminergic neurons from Parkinson's disease patients. *EMBO Mol Med*. 2015;7:1529–46, <http://dx.doi.org/10.15252/emmm.201505439>.
89. Ebben JD, Zorniak M, Clark PA, Kuo JS. Introduction to induced pluripotent stem cells: Advancing the potential for personalized medicine. *World Neurosurg*. 2011;76(3-4):270–5, <http://dx.doi.org/10.1016/j.wneu.2010.12.055>.
90. Sánchez-Danés A, Richaud-Patin Y, Carballo-Carbajal I, Jiménez-Delgado S, Caig C, Mora S, et al. Disease-specific phenotypes in dopamine neurons from human iPSC-based models of genetic and sporadic Parkinson's disease. *EMBO Mol Med*. 2012;4:380–95, <http://dx.doi.org/10.1002/emmm.201200215>.
91. Holmqvist S, Lehtonen Š, Chumarina M, Puttonen KA, Azevedo C, Lebedeva O, et al. Creation of a library of induced pluripotent stem cells from Parkinsonian patients. *NPJ Parkinsons Dis*. 2016;2:16009, <http://dx.doi.org/10.1038/npjparkd.2016.9>. Published 2016 Jun 2.



92. Petrenko Y, Vackova J, Kekulova K, Chudickova M, Koci Z, Turnovcova K, et al. A comparative analysis of multipotent mesenchymal stromal cells derived from different sources, with a focus on neuroregenerative potential. *Sci Rep.* 2020;10:4290, <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-020-61167-z>.
93. Grealish S, Diguett E, Kirkeby A, Mattsson B, Heuer A, Bramoulle Y, et al. Human ESC-derived dopamine neurons show similar preclinical efficacy and potency to fetal neurons when grafted in a rat model of Parkinson's disease. *Cell Stem Cell.* 2014;15:653–65, <http://dx.doi.org/10.1016/j.stem.2014.09.017>.
94. Du F, Yu Q, Chen A, Chen D, Yan SS. Astrocytes attenuate mitochondrial dysfunctions in human dopaminergic neurons derived from iPSC. *Stem Cell Reports.* 2018;10:366–74, <http://dx.doi.org/10.1016/j.stemcr.2017.12.021>.
95. Jo J, Xiao Y, Sun AX, Cukuroglu E, Tran HD, Göke J, et al. Midbrain-like organoids from human pluripotent stem cells contain functional dopaminergic and neuromelanin-producing neurons. *Cell Stem Cell.* 2016;19:248–57, <http://dx.doi.org/10.1016/j.stem.2016.07.005>.
96. Lancaster MA, Renner M, Martin CA, Wenzel D, Bicknell LS, Hurler ME, et al. Cerebral organoids model human brain development and microcephaly. *Nature.* 2013;501:373–9, <http://dx.doi.org/10.1038/nature12517>.
97. Logan S, Arzua T, Canfield SG, Seminary ER, Sison SL, Ebert AD, et al. Studying human neurological disorders using induced pluripotent stem cells: From 2D monolayer to 3D organoid and blood brain barrier models. *Compr Physiol.* 2019;9:565–611, <http://dx.doi.org/10.1002/cphy.c180025>.
98. Lancaster MA, Knoblich JA. Generation of cerebral organoids from human pluripotent stem cells. *Nat Protoc.* 2014;9:2329–40, <http://dx.doi.org/10.1038/nprot.2014158>.
99. Liu C, Oikonomopoulos A, Sayed N, Wu JC. Modeling human diseases with induced pluripotent stem cells: From 2D to 3D and beyond. *Development.* 2018;145, <http://dx.doi.org/10.1242/dev.156166>.
100. Takahashi K, Yamanaka S. A decade of transcription factor-mediated reprogramming to pluripotency. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2016;17:183–93, <http://dx.doi.org/10.1038/nrm.20168>.
101. Ono Y, Nakatani T, Sakamoto Y, Mizuhara E, Minaki Y, Kumai M, et al. Differences in neurogenic potential in floor plate cells along an anteroposterior location: midbrain dopaminergic neurons originate from mesencephalic floor plate cells. *Development.* 2007;134:3213–25, <http://dx.doi.org/10.1242/dev.02879>.
102. Xue Y, Zhan X, Sun S, Karuppagounder SS, Xia S, Dawson VL, et al. Synthetic mRNAs drive highly efficient iPSC cell differentiation to dopaminergic neurons. *Stem Cells Transl Med.* 2019;8:112–23, <http://dx.doi.org/10.1002/sctm.18-0036>.
103. Chiruvella KK, Liang Z, Wilson TE. Repair of double-strand breaks by end joining. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2013;5, <http://dx.doi.org/10.1101/cshperspect.a012757>.
104. Hsu PD, Lander ES, Zhang F. Development and applications of CRISPR-Cas9 for genome engineering. *Cell.* 2014;157:1262–78, <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2014.05.010>.
105. Anders C, Niewoehner O, Duerst A, Jinek M. Structural basis of PAM-dependent target DNA recognition by the Cas9 endonuclease. *Nature.* 2014;513:569–73, <http://dx.doi.org/10.1038/nature13579>.
106. Salsman J, Dellaire G. Precision genome editing in the CRISPR era. *Biochem Cell Biol.* 2017;95:187–201, <http://dx.doi.org/10.1139/bcb-2016-0137>.
107. Stoddard-Bennett T, Pera RR. Stem cell therapy for Parkinson's disease: Safety and modeling. *Neural Regen Res.* 2020;15:36–40, <http://dx.doi.org/10.4103/1673-5374.264446>.
108. Takahashi J. Preparing for first human trial of induced pluripotent stem cell-derived cells for Parkinson's disease: An interview with Jun Takahashi. *Regen Med.* 2019;14:93–5, <http://dx.doi.org/10.2217/rme-2018-0158>.
109. Doi D, Magotani H, Kikuchi T, Ikeda M, Hiramatsu S, Yoshida K, et al. Pre-clinical study of induced pluripotent stem cell-derived dopaminergic progenitor cells for Parkinson's disease. *Nat Commun.* 2020;11:3369, <http://dx.doi.org/10.1038/s41467-020-17165-w>.
110. Sack M. «Clinicaltrials.gov,» NIH, Octubre 2020 [consultado Oct 2020]. Disponible en: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01143454?term=ipsc&cond=Parkinson+Disease&draw=2&rank=1>.
111. Reubinoff B. «Clinicaltrials.gov,» NIH, Agosto 2020 [consultado Oct 2020]. Disponible en: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00874783?term=ipsc&cond=Parkinson+Disease&draw=2&rank=2>.
112. Gorecka J, Kostiuk V, Ferreydooni A, Gonzalez L, Luo J, Dash B, et al. The potential and limitations of induced pluripotent stem cells to achieve wound healing. *Stem Cell Res Ther.* 2019;10:87, <http://dx.doi.org/10.1186/s13287-019-1185-1>.
113. Playne R, Connor B. Understanding Parkinson's Disease through the use of cell reprogramming. *Stem Cell Rev Rep.* 2017;13:151–69, <http://dx.doi.org/10.1007/s12015-017-9717-5>.
114. Perlow MJ, Freed WJ, Hoffer BJ, Seiger A, Olson L, Wyatt RJ. Brain grafts reduce motor abnormalities produced by destruction of nigrostriatal dopamine system. *Science.* 1979;204:643–7, <http://dx.doi.org/10.1126/science.571147>.
115. Perlow MJ, Freed WJ, Hoffer BJ, Seiger A, Olson L, Wyatt RJ. Brain grafts reduce motor abnormalities produced by destruction of nigrostriatal dopamine system. *Lancet.* 2016;387:1979–81, [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)30390-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(16)30390-7).
116. Barker RA. Developing stem cell therapies for Parkinson's disease: Waiting until the time is right. *Cell Stem Cell.* 2014;15:539–42, <http://dx.doi.org/10.1016/j.stem.2014.09.016>.