

**UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ
FACULTAD DE MEDICINA
TRABAJO DE FIN DE GRADO EN MEDICINA**



**ALFA-SINUCLEÍNA. UNA PROTEÍNA CANDIDATA A MEDIAR EN
EL MECANISMO MOLECULAR DEL PARKINSON. ASPECTOS
MOLECULARES E IMPLICACIONES DIAGNÓSTICAS Y
TERAPÉUTICAS.**

Autor: JORGE TONDA RUIZ.

Tutor: LUIS MIGUEL GUTIÉRREZ PÉREZ.

Departamento de bioquímica y biología molecular.

Curso académico 2021-2022. Convocatoria de Junio.

ÍNCIDE

RESUMEN / ABSTRACT	4
ABREVIATURAS	5
INTRODUCCIÓN	5
OBJETIVOS	6
MATERIAL Y MÉTODOS	7
DISEÑO	7
ESTRATEGIA DE BÚSQUEDA	7
CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN	8
ARTÍCULOS SELECCIONADOS	9
RESULTADOS	10
ALFA-SÍNUCLEÍNA. HISTORIA	10
ALFA-SINUCLEÍNA. ESTRUCTURA	11
FUNCIÓN DE LA ALFA-SINUCLEÍNA	12
ALFA-SINUCLEÍNA Y SU PAPEL EN LA FISIOPATOLOGÍA DE LA ENFERMEDAD DE PARKINSON	14
CAMBIO DE PARADIGMA: OLIGÓMEROS DE ALFA-SINUCLEÍNA	14
MECANISMOS DE TOXICIDAD DE LOS OLIGÓMEROS DE ALFA-SINUCLEÍNA	16
EXTENSIÓN CEREBRAL. HIPÓTESIS PRIÓNICA	18

ALFA-SINUCLÉINA Y SU PAPEL EN EL DIAGNÓSTICO DE ENFERMEDAD DE PARKINSON	19
ALFA-SINUCLÉINA EN EL TRATAMIENTO DE ENFERMEDAD DE PARKINSON ...	22
DISCUSIÓN	24
CONCLUSIONES	26
BIBLIOGRAFÍA	28



RESUMEN / ABSTRACT

La alfa-sinucleína (α -syn) es una proteína compuesta por 140 aminoácidos y codificada por el gen SNCA, cuya función principal es el transporte y estabilización de vesículas sinápticas en neuronas dopaminérgicas. Se ha descubierto que la α -syn tiene un importante papel neurotóxico implicado en la patogénesis de la EP, siendo también el componente mayoritario de los cuerpos de Lewy. La α -syn existe en equilibrio en sus formas solubles y en conformaciones unidas a membranas. Una alteración de ese equilibrio hace que se agregue formando oligómeros, que son las principales especies neurotóxicas de la α -syn y que, mediante mecanismos de alteración de la función mitocondrial, metabólica y de la respuesta inflamatoria, conducen a lesión y muerte celular.

La α -syn puede propagarse de forma similar a un prión, por lo que es posible detectar formas patológicas de α -syn en multitud de tejidos fuera del SNC. Distintos estudios buscan el mejor método y localización para medir los niveles de α -syn y tener un método diagnóstico eficaz para la EP. Naturalmente, la α -syn también se utiliza en la búsqueda de nuevos tratamientos mediante distintas estrategias como disminuir su agregación, aumentar su degradación o limitar su diseminación a otras células. Tanto los estudios centrados en métodos diagnósticos como los centrados en nuevas terapias están teniendo resultados bastante prometedores, pero es necesario seguir investigando al respecto.

Alpha-synuclein (α -syn) is a protein composed of 140 amino acids and encoded by the SNCA gene, and its main function is the transport and stabilization of synaptic vesicles, mainly in dopaminergic neurons. α -syn has been found to play an important neurotoxic role in the pathogenesis of PD, also being the major component of Lewy bodies. α -syn exists in equilibrium in its soluble forms and in its membrane-bound conformations. However, an

alteration of this equilibrium causes it to aggregate forming oligomers, which are the main neurotoxic species of α -syn and which, through mechanisms of mitochondrial, metabolic, and inflammatory response alteration lead to cell injury and death.

The α -syn can spread in a prion-like manner, therefore pathological forms of α -syn can be detected in many tissues outside the CNS. Different studies seek the best method and location of measuring α -syn levels in order to have an effective diagnostic method to detect PD. Naturally, α -syn is also the focus of numerous investigations with the objective of being able to treat the disease in a curative way by reducing its aggregation, increasing its degradation or limiting its spread to other cells. Studies focused on diagnostic methods and those focused on curative therapies are having promising results, but further research is needed in this regard.

ABREVIATURAS

α -syn: alfa-sinucleína.

ALP: vía de autofagia-lisosomal.

CLs: Cuerpos de Lewy.

COMPT: catecol orto-metiltransferasa.

EP: enfermedad de Parkinson.

LCR: líquido cefalorraquídeo.

MAO-B: monoaminooxidasa-B.

RE: retículo endoplasmático.

UBS: sistema ubiquitina-proteasoma.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Parkinson (EP) se ha convertido en una de las enfermedades neurodegenerativas más importantes en nuestro medio, tanto por su elevada prevalencia como por la importante discapacidad y gasto socioeconómico que conlleva. Ésta se manifiesta generalmente a partir de los 40 años, siendo la edad media de diagnóstico los

70,5 años. La incidencia acumulada es de 8-18 casos cada 100.000 habitantes y tiene una prevalencia de entorno a 0,3% en personas mayores de 40 años.

Las manifestaciones clínicas clásicas de la EP son de tipo motor: temblor en reposo, bradicinesia, inestabilidad postural y rigidez; aunque también pueden tener sintomatología no motora como alteraciones anímicas, alucinaciones o demencia ⁽²⁾. El tratamiento farmacológico actual para la EP es de carácter sintomático y va dirigido fundamentalmente a aumentar los déficits de dopamina existentes. La levodopa, los agonistas dopaminérgicos, los inhibidores de MAO-B, los inhibidores de la COMPT, y los agentes anticolinérgicos son los más utilizados ⁽³⁾.

En la EP se produce una pérdida selectiva de neuronas dopaminérgicas que provoca un déficit de dopamina en diferentes vías motoras, ocasionando una inhibición talámica y una reducción de la entrada excitatoria hacia la corteza ⁽¹⁾. En los cerebros de pacientes con EP encontramos generalmente un patrón que incluye despigmentación, pérdida de neuronas y de células de la glía localizadas en la sustancia negra *pars compacta* y en el *locus ceruleus*. Además, también encontramos los cuerpos de Lewy (CLs), que son inclusiones citoplasmáticas características de la EP compuestas mayoritariamente por una proteína: la alfa-sinucleína (α -syn) ⁽¹⁾. La etiopatogenia de la EP se desconoce en la actualidad, pero estudios realizados durante los últimos 40 años apuntan a que la α -syn tiene un papel esencial en la etiopatogenia de la enfermedad y puede ser la base de métodos diagnósticos y terapias modificadoras de enfermedad.

OBJETIVOS

El objetivo del presente trabajo es realizar una revisión de la literatura más actual en lo relativo a la EP y a su relación con la α -syn. Debido a lo amplio del tema, se ha decidido

centrar y potenciar la búsqueda fundamentalmente en las características moleculares y funcionales de la α -syn y su implicación fisiopatológica en la EP; las posibilidades diagnósticas de la α -syn en la EP; y las nuevas perspectivas terapéuticas centradas en la α -syn.

MATERIAL Y MÉTODOS

DISEÑO

Se realizó una búsqueda y revisión sistemática de la literatura, principalmente a través de tres plataformas de búsqueda o bases de datos: PubMed, SCOPUS y Google Académico. Esta búsqueda estuvo centrada en los tres objetivos principales del trabajo: los aspectos moleculares y funcionales de la α -syn y su relación con la EP; el posible papel de la α -syn en el diagnóstico de la EP; y el uso de la α -syn en las nuevas estrategias terapéuticas contra la EP.

ESTRATEGIA DE BÚSQUEDA

En primer lugar, se realizó a través de la plataforma clínica UpToDate una primera búsqueda sobre la EP con el fin de tener una descripción general acerca de las principales características de esta: epidemiología, etiopatogenia, manifestaciones clínicas y tratamiento de la EP.

Seguidamente, se hizo una búsqueda superficial con términos sueltos como "*Parkinson's disease*", "*alpha-synuclein*"; y la ecuación "*Parkinson's disease and alpha-synuclein*". Una vez obtenida una idea de la magnitud de la literatura existente y en base a los tres objetivos del estudio se diseñaron y utilizaron las siguientes ecuaciones de búsqueda:

“Parkinson’s disease” and “alpha-synuclein”.

“Parkinson’s disease” and “alpha-synuclein” and “molecular structure”.

“Parkinson’s disease” and “alpha-synuclein” and “physiopathology”.

“Parkinson’s disease” and “alpha-synuclein” and “diagnosis”.

“Parkinson’s disease” and “alpha-synuclein” and “therapy”.

Todas las búsquedas se filtraron por fecha para obtener publicaciones hechas desde 2018 en adelante, para así diferenciarlo de trabajos similares hechos con anterioridad, y poder ofrecer la versión más actual del tema a tratar. No obstante, se hizo una excepción con un artículo de 2017 ⁽⁹⁾ extraído de la bibliografía de un artículo reciente y que resultó de interés para el trabajo.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

Se incluyeron en el estudio todos los artículos, revisiones sistemáticas y ensayos experimentales que tuviesen relación con el tema a tratar, incluyendo fundamentalmente aquellos relacionados con los aspectos moleculares y celulares de la α -syn, así como la relación de esta con la EP, su diagnóstico y su tratamiento.

Después de una primera selección donde obtuvimos 32 artículos de interés, se acotó el estudio a 14 artículos en base a los siguientes criterios de exclusión:

- Existencia de otro artículo similar cuya fecha de publicación fuese más reciente.
- Que sea un artículo experimental con resultados muy preliminares, que no se puedan contrastar con otras fuentes o no resulten de utilidad.
- Los artículos con un nivel académico muy elevado y una alta complejidad en aspectos muy concretos del tema y que carezcan de relevancia.

- Se desecharon los artículos a los que no se podía acceder mediante las credenciales y suscripciones ofertadas por la Universidad Miguel Hernández de Elche a sus alumnos.

ARTÍCULOS SELECCIONADOS

TÍTULO	AÑO DE PUBLICACIÓN	AUTORES	TIPO DE ESTUDIO Y TEMA
Cell Biology and Pathophysiology of α -Synuclein.	2018	Burré, J., Sharma, M., & Südhof, T. C.	Revisión bibliográfica que analiza la estructura, función y papel fisiopatológico de la α -syn en la EP.
Alpha-synuclein pathology and the role of the microbiota in Parkinson's disease.	2019	Fitzgerald, E., Murphy, S., & Martinson, H. A.	Revisión bibliográfica que analiza la estructura función y fisiopatología de la α -syn en la EP incidiendo en el papel que puede tener la microbiota intestinal en el desarrollo de la enfermedad.
The Role of α -Synuclein Oligomers in Parkinson's Disease.	2020	Xiao Y., Xi X., y Liu, R.	Revisión bibliográfica que analiza el papel de los oligómeros de α -syn en la patogénesis de la EP.
Alpha-synuclein: Pathology, mitochondrial dysfunction and neuroinflammation in Parkinson's disease.	2018	Rocha, E. M., De Miranda, B., & Sanders, L. H.	Revisión bibliográfica centrada en el papel neuropatológico de la α -syn en la disfunción de las neuronas dopaminérgicas en la EP.
α -Synuclein pathology in Parkinson's disease and related α -synucleinopathies.	2019	Henderson, M. X., Trojanowski, J. Q., y Lee, V. M.	Revisión bibliográfica que investiga sobre la α -syn y sus mecanismos fisiopatológicos destacando la evidencia de propagación neuronal de la α -syn a modo de prión.
Diagnostic utility of cerebrospinal fluid α -synuclein in Parkinson's disease: A systematic review and meta-analysis.	2017	Eusebi P., Giannandrea D., Biscetti L., Abraha I., Chiasserini D., Orso M., Calabresi P., y Parnetti L.	Metaanálisis en el que se investiga acerca de los niveles de α -syn en LCR y el uso de estos como método posible diagnóstico.
Evolution of cerebrospinal fluid total α -synuclein in Parkinson's disease.	2018	Førland, MG, Öhrfelt, A., Dalen, I., Tysnes, OB, Blennow, K., Zetterberg, H., ... y Lange, J.	Ensayo clínico que intenta identificar variaciones de α -syn total en LCR en pacientes con EP.
High diagnostic performance of independent alpha-synuclein seed amplification assays for detection of early Parkinson's disease.	2021	Russo, MJ, Orru, CD, Concha-Marambio, L., Giaisi, S., Groveman, BR, Farris, CM, ... y Kang, UJ	Ensayo clínico que compara técnicas de biología molecular dirigidas a la identificación y cuantificación de formas incipientes de α -syn patológica en LCR.
Plasma and serum alpha-Synuclein as a biomarker of diagnosis in patients with Parkinson's disease.	2020	Chang, CW, Yang, SY, Yang, CC, Chang, CW y Wu, YR.	Ensayo clínico en que se midió en plasma y suero la concentración de α -syn en sujetos con EP.
Diagnostic utility of gut α -synuclein in Parkinson's disease: A systematic review and meta-analysis.	2019	Bu, J., Liu, J., Liu, K. y Wang, Z.	Metaanálisis que analiza diferentes estudios en los que se busca identificar y cuantificar α -syn

			en diferentes localizaciones del sistema digestivo.
Salivary alpha-synuclein as a biomarker for Parkinson's disease: a systematic review.	2019	Bougea, A., Koros, C. y Stefanis, L.	Revisión bibliográfica que trata de recopilar información acerca de la medición de α -syn en saliva de pacientes con EP.
Targeting alpha-synuclein as a therapy for Parkinson's disease.	2019	Fields CR, Bengoa-Vergniory N, y Wade-Martins R.	Revisión bibliográfica que analiza los mecanismos fisiopatológicos de la α -syn y las líneas terapéuticas actuales para usar la α -syn en el tratamiento de la EP.
Targeting α -Synuclein in Parkinson's Disease: Progress Towards the Development of Disease-Modifying Therapeutics.	2019	Savitt, D. y Jankovic, J.	Revisión bibliográfica que indaga sobre las posibles terapias de la EP que tiene como diana la α -syn.
Alpha-Synuclein and Cognitive Decline in Parkinson Disease.	2021	Fan T-S, Liu SC-H, Wu R M.	Revisión bibliográfica que analiza la estructura, función y papel fisiopatológico de la α -syn en la EP.

Tabla 1. Artículos seleccionados. En esta tabla observamos los artículos utilizados en el trabajo. En rojo se resalta un artículo referenciado en varios de los otros artículos pero que no cumple el criterio de fecha de publicación pero que se incluyó en el estudio.

RESULTADOS

ALFA-SÍNUCLEÍNA. HISTORIA

La α -syn se describió primera vez gracias a Maroteux en 1988 en el tejido neuronal de la especie *Torpedo californica* usando un anticuerpo contra vesículas colinérgicas purificadas. Además de describir una localización presináptica también detectó α -syn en la envoltura nuclear, de ahí el nombre sinucleína: de las vesículas sinápticas ("syn") y la envoltura nuclear ("nucleína") ⁽⁴⁾.

La proteína cobró mayor importancia en 1977 cuando se identificó como principal componente de los CLs, y posteriormente, con el descubrimiento de una mutación casual (A53T) del gen SNCA que se relacionaba fuertemente con la EP. Además, la α -syn está involucrada en otros trastornos neurodegenerativos como la demencia por cuerpos de Lewy y la atrofia multisistémica múltiple. Todas estas enfermedades tienen en común el plegamiento incorrecto, la agregación y acumulación de α -syn ⁽⁴⁾.

ALFA-SINUCLÉINA. ESTRUCTURA

La α -syn es miembro de una familia de las sinucleínas, un grupo de proteínas sinápticas compuesto por tres proteínas: la alfa-sinucleína, la beta-sinucleína y gamma-sinucleína. La α -syn tiene un peso molecular de 14.460 Da, está compuesta por 140 aminoácidos y está codificada por el gen SNCA, que se localiza en el brazo largo del cromosoma 4 (4q21.3-q22) ⁽⁴⁾.

Se trata de una proteína que se expresa de forma ubicua y que está muy enriquecida en las neuronas, especialmente en las terminales presinápticas y en las vesículas sinápticas que estas contienen. No obstante, se han propuesto un número significativo de localizaciones adicionales para la α -syn (corazón, músculos, ovarios, endometrio, placenta, riñón, hígado, pulmones, testículos, próstata, etc.) ⁽⁴⁾.

En ella se diferencian tres dominios: una región N-terminal (AA 1–60) anfipática que interactúa con los fosfolípidos y juega un papel en la modulación de las interacciones de α -syn con las membranas; un dominio central hidrofóbico denominado NAC o componente β no amiloide (AA 61–95) muy rico en aminoácidos hidrofóbicos esenciales para la agregación α -syn; y una región carboxi-terminal o C-terminal (AA 96–140) implicada en la agregación y la formación de fibrillas de α -syn, así como en las interacciones con metales, moléculas pequeñas y otras proteínas ^(4, 5).

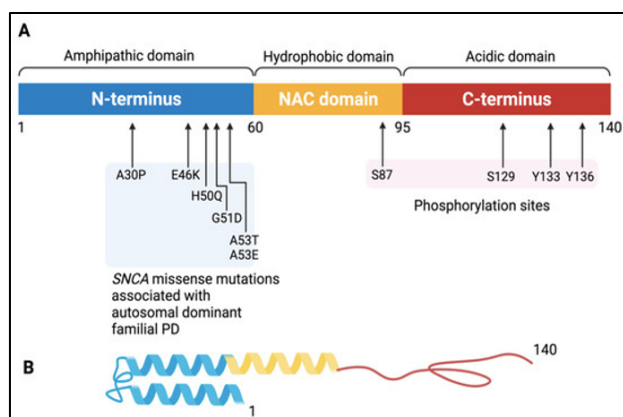


Ilustración 1 Estructura del monómero de α -sinucleína. En la figura A vemos representada los tres dominios de la α -syn: la región N-terminal (azul), donde se encuentran las principales mutaciones relacionadas con la EP; el dominio central (amarillo) donde se encuentra la zona NAC hidrofóbica; y el dominio C-terminal (rojo) donde se da la fosforilación del residuo de ser-129 y otras fosforilaciones postraduccionales. En la figura B observamos una representación de la estructura secundaria de la α -syn ⁽¹⁷⁾.

La forma que adquiere fisiológicamente la α -syn es aún tema de debate, pero se sugiere que existe en equilibrio entre un estado soluble y otro unido a membrana dependiendo de su estructura secundaria. Cuando se encuentra de forma soluble, principalmente es un monómero no estructurado y que se comporta como una proteína desplegada de forma nativa, aunque estudios recientes sugieren que existen algunas formas multiméricas estables y solubles que pueden resistir la agregación, como su forma tetramérica ⁽⁴⁾.

En caso de unirse a membranas, adquiere una conformación de alfa hélice helicoidal. Esto es posible ya que la α -syn posee a lo largo de su región N-terminal una secuencia característica de 11 residuos (consenso KTKEGV) que se repite siete veces, que le ayuda a adquirir esa forma al unirse a los lípidos. Si bien en función de la membrana a la que se una también puede adoptar una forma de alfa-hélice rota para adaptarse a membranas más curvadas ⁽⁴⁾.

FUNCIÓN DE LA ALFA-SINUCLÉINA

Las funciones que ejerce la α -syn de manera fisiológica aún no están claras y son fuente de numerosas investigaciones. Por el momento las acciones que ejerce la α -syn se resumen en:

- Transporte y empaquetamiento de lípidos y biogénesis de membrana.

La capacidad de unirse a los fosfolípidos junto con la similitud con apolipoproteínas de clase A2 sugiere que la α -syn pueda tener una determinada importancia en el transporte de lípidos a través de compartimentos membranosos. A su vez, está demostrado que la α -syn induce curvatura de la membrana y que pueden actuar como inhibidor específico de fosfolipasas regulando la degradación de membranas ⁽⁴⁾.

- Actividad de chaperonas moleculares.

La estructura bioquímica de las α -syn predice que se pueda comportar como una chaperona, compartiendo similitudes con la familia 14-3-3 de chaperonas moleculares (4).

- Tráfico de vesículas.

Hay una gran cantidad de evidencias que sugieren que la α -syn está implicada en el reciclaje y transporte de vesículas, especialmente de vesículas sinápticas. Esto es posible debido a la interacción que ejercen a través del ensamblaje y desmontaje del complejo SNARE (4).

- Síntesis y transporte de dopamina.

La α -syn inhibe la síntesis de dopamina mediante la inhibición de la expresión y la actividad de la tirosina hidroxilasa, así como por su efecto en el transporte de vesículas sinápticas (4).

- Acción sobre la microglía.

Se cree que la α -syn media con las células gliales interviniendo en la síntesis de metabolismo de proteínas y neurotransmisores como la dopamina. Además, puede intervenir en la apoptosis neuronal a través de la glía (4).

- Liberación de neurotransmisores y plasticidad sináptica.

Es probablemente la función más relevante de la α -syn, aunque el mecanismo por el que desarrollan esta acción no se encuentra del todo claro. Cuando se localiza en la terminal presináptica, la α -syn se comporta como una proteína bastante móvil que se dispersa con la llegada del impulso nervioso. La α -syn actúa regulando el número de vesículas presinápticas manteniéndolas en un número estable. También se agrupan formando multímeros disminuyendo la movilidad de dichas vesículas y atenuando su

capacidad de exocitosis. Por lo tanto, se entiende que la α -syn ejerce su función neuroreguladora a través de la estabilización y modulación de las vesículas presinápticas ⁽⁴⁾.

ALFA-SINUCLÉINA Y SU PAPEL EN LA FISIOPATOLOGÍA DE LA ENFERMEDAD DE PARKINSON

CAMBIO DE PARADIGMA: OLIGÓMEROS DE ALFA-SINUCLÉINA

Anteriormente, las principales hipótesis sugerían que las fibrillas de amiloide derivadas de la α -syn eran las responsables de generar la toxicidad causante de la EP, debido a que era el componente principal encontrado en los estudios realizados en los cerebros de fallecidos por EP. Sin embargo, recientemente se está informando de que las especies oligoméricas de α -syn son las verdaderas responsables de la neurotoxicidad en la patogenia de la EP ⁽⁶⁾.

Como ya hemos comentado, la α -syn se puede encontrar de forma fisiológica unida a membrana, de forma soluble, o en forma multimérica (generalmente tetramérica). Cuando existe un desequilibrio entre la producción y la eliminación de α -syn se produce una agregación anormal del α -syn, estos agregados monoméricos solubles tienden a formar oligómeros, pasando posteriormente a formar fibrillas de amiloide y finalmente degenerar en CLs ⁽⁷⁾.

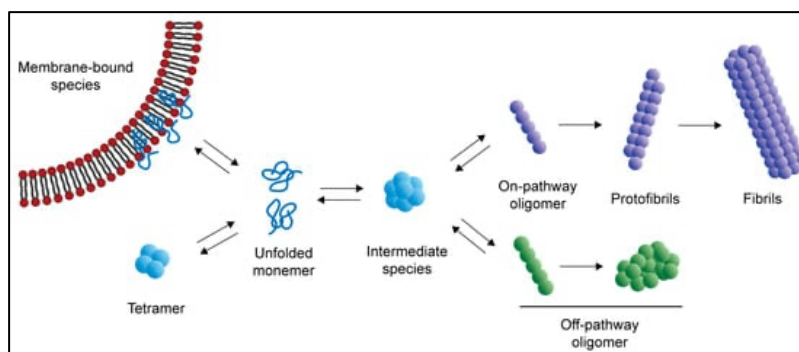


Ilustración 2. Proceso de agregación de la α -sinucleína. La α -syn de forma fisiológica se mantiene en equilibrio entre su forma soluble de monómero desplegado, su forma de unión a membrana, y la forma tetramérica (de reciente descubrimiento). Un desequilibrio entre formación y

eliminación de α -syn puede conducir a que los monómeros se agreguen en oligómeros. Una parte de los oligómeros que se

mantienen “en ruta” tienden a la formación de protofibrillas que finalmente darán lugar a fibrillas. Una parte de los oligómeros que van “fuera de ruta” generan estructuras aberrantes indeterminadas ⁽⁶⁾.

Este desequilibrio puede estar determinado por varios factores como un fallo en la degradación o el plegamiento de la α -syn, o una sobreexpresión o defecto de la α -syn consecuencia de mutaciones, que se dan principalmente en el gen SNCA. También determinadas modificaciones postraduccionales como la fosforilación en el residuo de serina-129 pueden favorecer la acumulación de α -syn oligomérica y acelerar la formación de inclusiones de α -syn. De hecho, se ha observado que el 90% de la α -syn presente en los CLs tiene fosforilación ser-129 ⁽⁷⁾.

La estructura de los oligómeros se desconoce con exactitud, aunque diferentes estudios han determinado los primeros esbozos de la morfología de éstos, diferenciando una forma circular alargada con una cavidad central. También se ha demostrado que contienen ciertas estructuras secundarias que tienen un determinante papel neurotóxico. Un ejemplo son las hélices alfa anfipáticas del dominio N-terminal que le permiten unirse a membranas. A su vez, la presencia de fracciones de estructura de lámina beta, abundantes en los núcleos de los oligómeros, que pueden formar poros en las bicapas lipídicas ⁽⁶⁾.

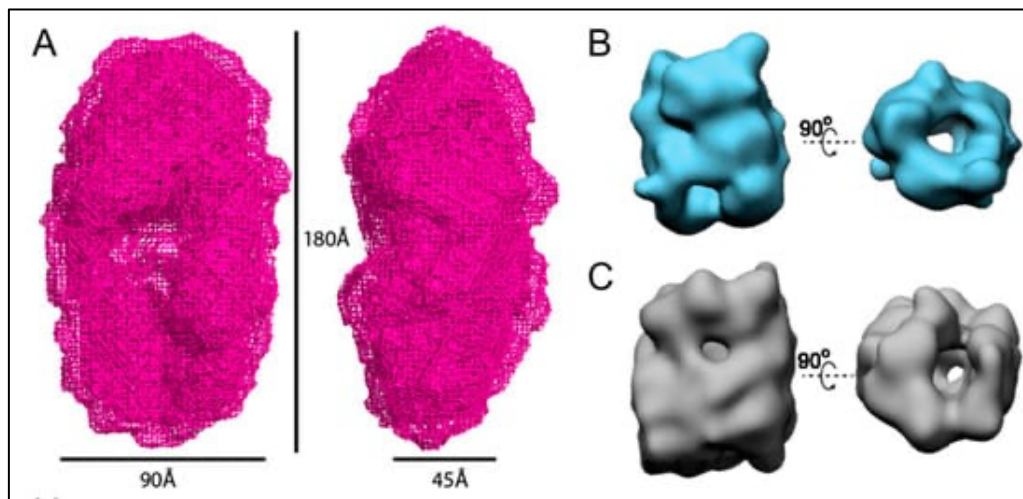


Ilustración 3. Comprensión actual de la estructura de los oligómeros de α -sinucleína. En la figura A, se obtiene mediante dispersión de rayos X y se observa que los oligómeros de α -syn tienen una estructura de 180Å de largo y 90Å de ancho. Las figuras B y C son obtenidas mediante microscopía electrónica y se muestran dos especies de oligómeros que coinciden en la presencia de una cavidad central ⁽⁶⁾.

MECANISMOS DE TOXICIDAD DE LOS OLIGÓMEROS DE ALFA-SINUCLEÍNA.

Los mecanismos de toxicidad de los oligómeros son muy variados y aún están por determinar, los descritos actualmente se resumen en:

- Disfunción mitocondrial.

Los oligómeros de α -syn producen mediante un daño estructural defectos en la respiración celular, principalmente a través de la afectación del complejo I mitocondrial. Esto produce una disfunción de la ATP sintasa y la peroxidación lipídica promoviendo la apertura del poro de transmisión osmótica y degenerando en una inflamación mitocondrial que llevará a la muerte celular.

Además de en las neuronas, se ha observado que los oligómeros de α -syn producen una disfunción mitocondrial en los astrocitos, repercutiendo en última instancia en un deterioro neuronal ⁽⁶⁾.

- Estrés en el retículo endoplasmático (RE).

El RE es un orgánulo que participa esencialmente en el plegamiento, modificación y transporte de proteínas. En consecuencia, una saturación del RE a causa de una agregación de proteínas, un exceso de producción o mediante toxicidad directa por la α -syn puede provocar un deterioro de sus funciones repercutiendo sobre la maquinaria celular.

A su vez, el RE y las mitocondrias están en continua comunicación a través de la vía VAPB-PTPIP51, vía que tiene implicaciones en muchas funciones neurológicas. Los oligómeros pueden unirse a VAPB e interferir en esta vía debilitando la asociación mitocondria-RE y aumentando el estrés en el RE ⁽⁶⁾.

- Pérdida de proteostasis.

Las principales vías de eliminación de proteínas defectuosas, mal plegadas o sobre-expresadas son: el sistema ubiquitina-proteasoma (UPS) y la vía de autofagia-lisosomal (ALP). Numerosos estudios sugieren que la principal vía de degradación de la α -syn es el sistema UPS, aunque en situaciones de sobrecarga también puede participar la vía de ALP. Los oligómeros tienen la capacidad de inhibir la función del proteasoma, lo que incrementa el número de proteínas de α -syn defectuosas y oligómeros ocasionando un círculo vicioso, inhibiendo aún más la degradación. Todo ello conduce a un incremento de la cantidad de oligómeros que acaba produciendo toxicidad y muerte neuronal ⁽⁶⁾.

- Deterioro sináptico.

El aumento de oligómeros conduce a una disminución de la densidad de los axones, y a una degeneración sináptica por deterioro en el transporte de vesículas secundario a un fallo en el ensamblaje del sistema SNARE y a defectos energéticos derivados de la afección mitocondrial, siendo el resultado final una pérdida de sinapsis.

Por otra parte, se sugiere que una población de los oligómeros extracelulares se dirige al receptor NMDA dañando su transmisión, alterando la homeostasis del calcio e interfiriendo con procesos neuronales como el aprendizaje y la memoria. Actualmente, se considera una de las hipótesis que explican el deterioro cognitivo y demencia (y otros síntomas no motores) que aparecen en la EP ⁽⁶⁾.

- Apoptosis celular.

Además de por los mecanismos antes mencionados, los oligómeros de α -syn pueden inducir apoptosis por otras vías: producción de radicales libres, que resultan en una disminución del glutatión endógeno con la consecuente muerte celular; destrucción de membranas causadas por oligómeros ricos en láminas beta; peroxidación lipídica o ferroptosis ⁽⁶⁾.

- Neuroinflamación.

El efecto de las α -syn sobre los procesos inflamatorios de SNC es un tema en auge en los últimos años, ya que mediante diversos estudios se ha observado que la α -syn no sólo compromete las neuronas, sino que también tiene un importante efecto tóxico sobre las células gliales.

Los oligómeros de α -syn son capaces de interactuar con los receptores tipo Toll implicados en la respuesta inflamatoria, que producen la liberación de determinadas citoquinas proinflamatorias responsables de la disfunción glial y neuronal, así como de su muerte ⁽⁶⁾.

EXTENSIÓN CEREBRAL. HIPÓTESIS PRIÓNICA

La hipótesis del prión postula que una cantidad inicial de α -syn patológica puede ser secretada por una neurona y captada por otra, e inducir un mal plegamiento de α -syn en la neurona receptora de forma similar a como lo hace un prión.

El mecanismo por el cual se transmite de célula a célula es aún objeto de estudio, pero hasta el momento se ha observado que existe un proceso de captación en la neurona receptora que parece ser por endocitosis y que no estaría mediado por un receptor específico de α -syn ⁽⁸⁾, aunque otros estudios describen algunos receptores específicos que podrían favorecer la captación de α -syn ⁽¹⁵⁾.

La mayor parte de la α -syn absorbida permanece en los lisosomas para poder ser degradada mediante proteólisis, a excepción de una pequeña parte que escapa a este proceso y queda libre en el citoplasma. Cómo la α -syn escapa de los lisosomas no está claro, puede ser debido a ruptura lisosomal o a un deterioro lisosomal inducido por la edad. Esto podría explicar por qué la EP y otras enfermedades neurodegenerativas comienzan a dar la cara a determinadas edades ⁽⁸⁾.

Se intuye que la liberación de α -syn es un evento bastante más regulado que la secreción ya que únicamente las células más envejecidas, las células con la maquinaria de degradación de proteínas más deteriorada o las células que mueren, son las que más α -syn tóxica liberan al exterior. Son especialmente vulnerables las células que están en contacto sináptico con las células infectadas, ya que los ciclos rápidos de exo y endocitosis para liberar neurotransmisores puede hacerlas vulnerables a absorber α -syn de la célula enferma postsináptica. Por lo tanto, la transmisión de α -syn se realiza mayoritariamente de distal a proximal ⁽⁸⁾.

ALFA-SINUCLÉINA Y SU PAPEL EN EL DIAGNÓSTICO DE ENFERMEDAD DE PARKINSON

Como la gran mayoría de enfermedades, es importante tener un método con buena sensibilidad y especificidad para poder detectarlas. En este sentido, se han abierto varias líneas de investigación para la detección precoz y el seguimiento de la EP. La gran mayoría tienen como principal parámetro de estudio de los niveles de α -syn en diferentes tejidos. Estos se centran principalmente en el estudio de α -syn en plasma, en líquido cefalorraquídeo (LCR), en el aparato digestivo y en secreciones salivales. No obstante, se están estudiando numerosas localizaciones alternativas como la retina y la dermis.

Antes de pasar a comentar los diferentes métodos de diagnóstico, es necesario saber que por el momento ninguno de ellos está validado ya que se encuentran en unas fases iniciales de estudio, y todos están sujetos a diferentes limitaciones por lo que se necesita más investigación al respecto.

Medición de α -sinucleína en LCR

El análisis de α -syn en LCR fue de los primeros métodos propuestos debido a que se la EP es una enfermedad fundamentalmente de ámbito neurológico que podría alterar o expresarse en el LCR con cierta facilidad.

Un metaanálisis de 2017 rescatado de referencias bibliográficas determina que la concentración de α -syn es significativamente inferior en sujetos con EP. A su vez, la proporción de α -syn oligomérica también fue superior en EP ⁽⁹⁾. No obstante, investigaciones más recientes desechan el uso de α -syn total por la presencia resultados contradictorios en diversos estudios, destacando la necesidad de usar especies de α -syn más concretas como la α -syn fosforilada u oligomérica ⁽¹⁰⁾.

Por ello, otros estudios proponen técnicas de detección de amplificación de semillas de α -syn (formas mal plegadas de α -syn similares a priones que inducen la agregación de α -syn normal) con resultados igualmente prometedores pero que necesitan más desarrollo ⁽¹¹⁾.

Medición de α -sinucleína en plasma

La medición de α -syn en plasma es uno de los métodos más estudiados para poder detectar la EP. En un metaanálisis reciente en el que se evalúan diferentes técnicas y estudios para detectar α -syn en pacientes con EP se demuestra que los niveles de α -syn plasmáticos y en suero de eran más altos en los pacientes con EP que en los controles, sugiriendo la medición de α -syn como un método potencial de diagnóstico ⁽¹²⁾. A su vez, estos niveles se correlacionaban con la gravedad de los síntomas motores en épocas tempranas, lo que

podría dotar a la medición de α -syn de cierto valor pronóstico. Aun así, falta por aclarar el mecanismo por el que la α -syn se presenta en sangre. En este sentido se sugiere una liberación por exocitosis de las células neuronales en situaciones de sufrimiento neuronal, apoptosis o necrosis. Otro de los mecanismos propuestos es una liberación temprana periférica a través de plexo entérico, lugar donde se empieza a producir α -syn defectuosa según diversas hipótesis ⁽¹³⁾.

Medición de α -sinucleína intestinal

Como hemos mencionado anteriormente, varias hipótesis fundamentadas en estudios anatomopatológicos y la disfunción intestinal no motora presente en la EP apuntan al que el origen anatómico de la EP podría ser periférico, principalmente en el sistema nervioso entérico, y que posteriormente se propagase retrógradamente hacia el sistema nervioso central a través del nervio vago.

Se ha demostrado mediante métodos inmunohistoquímicos que la probabilidad de presencia de α -syn intestinal es de 10 veces mayor en sujetos con EP, lo que podría tener implicaciones en el diagnóstico precoz de la EP. Fueron especialmente prometedores los resultados obtenidos con anticuerpos frente a formas fosforiladas de α -syn y los realizados en colon frente a otras localizaciones como intestino o estómago ⁽¹³⁾.

Medición de α -sinucleína salival.

Está demostrado que en las etapas precoces de la EP existe cierta disfunción de las glándulas salivales, mostrando patología derivada de la presencia de CLs. Todo esto unido a la fácil accesibilidad en la toma de muestras salivales puede convertirlas un gran método de diagnóstico.

Un metaanálisis determinó que los niveles totales de α -syn en saliva son marcadamente inferiores en sujetos con EP, y que hay un aumento de las formas oligoméricas de α -syn

respecto a la α -syn total. A demás, se sugirieron diferentes características clínicas y demográficas en función de los niveles totales de α -syn ⁽¹⁴⁾.

ALFA-SINUCLÉINA EN EL TRATAMIENTO DE ENFERMEDAD DE PARKINSON

Actualmente la EP no tiene tratamiento curativo, los únicos fármacos que se emplean son a modo paliativo. Con el descubrimiento del papel fisiopatológico de la α -syn se han desarrollado numerosas estrategias con el objetivo de frenar el avance de la enfermedad, incluso de poder revertirla.

- Disminución de la producción de α -syn.

Uno de los enfoques terapéuticos potenciales consiste en la disminución de la producción de la α -syn. Actualmente esa disminución de cantidades se ha logrado experimentalmente, utilizando mecanismos de silenciamiento de genes e interfiriendo sobre los procesos de traducción el ARNm.

En los experimentos realizados se ha logrado una reducción satisfactoria de los niveles de α -syn tanto en sus niveles totales como en sus conformaciones patológicas, pero aún es necesario determinar el nivel de supresión necesario ya que el papel fisiológico de la α -syn está todavía por determinar y una disminución excesiva de la α -syn podría acarrear una disfunción neuronal ^(15,16).

- Inhibición de la agregación de α -syn.

La disminución de la agregación es otro de los objetivos terapéuticos más atractivos sobre los que intervenir. Se han abierto varias líneas de investigación al respecto. La primera se fundamenta en proteínas de choque térmico, que actúan como acompañantes moleculares ayudando a las proteínas nacientes a plegarse

correctamente. Otra línea terapéutica utiliza un modulador de oligómeros llamado Anle138b [3-(1,3-benzodioxol-5-il)-5-(3-bromofenil)-1H-pirazol], que inhibe la formación de oligómeros sin interferir en la expresión de la α -syn ni en las formas fisiológicas de la proteína. A su vez, existen multitud de estudios centrados en pequeñas moléculas que intervendrían en el ensamblaje de α -syn entre las que destacan baicaleína, la delfinidina, el cloruro de dopamina, metiltioninio, la galocatequina, todas con interesantes propiedades inhibitoras contra la formación de filamentos α -syn ⁽¹⁵⁾.

En este campo también existen varias líneas de investigación muy prometedoras centradas en la inmunoterapia. La gran mayoría se basan en usar diferentes anticuerpos dirigidos contra regiones de α -syn patológicas. A su vez, existen líneas estudios centrados en la inmunización activa del paciente, con vacunas constituidas por fragmentos sintéticos de α -syn que inducirían cierta inmunidad ^(15, 16).

- Mejorar la degradación de agregados intracelulares de α -syn.

Uno de los mecanismos implicados en la patogénesis de la EP se basa en una falta de degradación intracelular de los agregados de α -syn, fundamentalmente a defectos en la unión del lisosoma con el autofagosoma. Se ha demostrado que fármacos como la rapamicina inducen mediante la inhibición de mTOR una mejora de la autofagia, teniendo efectos neuroprotectores. Sin embargo, la rapamicina y otros análogos tienen una utilidad limitada debido a su falta de especificidad y su acción inmunosupresora. Por lo tanto, se están desarrollando nuevos fármacos que carezcan de las limitaciones de la rapamicina pero que puedan actuar igualmente sobre la autofagia por el mismo mecanismo. De estos destacamos la trehalosa, que es un azúcar que actúa mejorando la autofagia generando una mayor producción lisosomal; y el MSDC-0160, un modulador del transporte de piruvato mitocondrial que mediante una alteración del

metabolismo mitocondrial induce una inhibición de mTOR incrementando la autofagia⁽¹⁵⁾.

- Disminuir la propagación de α -syn.

La forma en la que la α -syn se libera por la célula y se propaga aún no se sabe con certeza, por lo que de momento los principales enfoques se basan en el bloqueo de los receptores de α -syn evitando su entrada a la célula. Actualmente se conoce la existencia de la proteína de superficie LAG3, que es un receptor involucrado en la endocitosis de α -syn extracelular agregada. Diversos estudios que utilizan anticuerpos dirigidos contra este receptor reducen de forma significativa la toxicidad y la transmisión de formas aberrantes de α -syn. Aun así, existen resultados contradictorios en otros estudios más recientes por lo que es necesario buscar nuevos receptores e investigar más acerca del mecanismo de propagación de la α -syn⁽¹⁵⁾.

DISCUSIÓN

La EP se caracteriza por ser una de las enfermedades neurodegenerativas más importantes por su elevada prevalencia, la incapacidad que produce a largo plazo, y la falta de un tratamiento curativo de la enfermedad.

Desde el descubrimiento de la α -syn como componente mayoritario de los CLs, ha habido numerosos avances y mejoras en la comprensión de la estructura y funciones de ésta, y de los defectos o mecanismos disruptivos que pueden hacer que se vuelva tóxica. Concretamente, se considera que un mal plegamiento de α -syn y su posterior agregación, son procesos importantes que ocurren en la patogénesis de la EP^(4, 5). Recientemente se ha descubierto que los principales mecanismos de toxicidad se ejercen mediante las formas

oligoméricas de α -syn, pero su conformación, estructura, y origen aún no se comprende de todo ⁽⁶⁾.

Es probable que la α -syn se disemine por el sistema nervioso de forma retrógrada de forma similar a como lo hace un prión, y aunque esta hipótesis esté bien fundamentada y respaldada, aún quedan muchas preguntas por resolver al respecto ⁽⁸⁾.

Evidentemente no se puede afirmar que las alteraciones en la α -syn sean la única causa de la EP por a la alta complejidad de la enfermedad y la multitud de factores que intervienen en ésta. Sin embargo, la evidencia es lo suficientemente sólida para poder usar la α -syn como sustrato principal en métodos diagnósticos y como diana de estrategias terapéuticas, con objetivos tan ambiciosos como detectar la enfermedad antes de que sea sintomática y lograr tratamientos curativos definitivos.

En cuanto a los procesos diagnósticos centrados en la α -syn existen varias líneas de investigación abiertas que coinciden en observar los niveles de α -syn en diferentes tejidos (LCR, plasma, intestino, colon estómago, saliva...). Los estudios analizados son muy heterogéneos debido al reciente comienzo de las investigaciones, pero los resultados son prometedores. Destacan especialmente los obtenidos al analizarse formas patológicas de ASYN. Como hemos dicho son resultados muy iniciales, pero que con el suficiente desarrollo puede que dentro de poco podamos tener métodos bastante fiables para la detección, medición de la progresión y pronóstico de la EP.

La mayoría de las opciones terapéuticas que se bajaran actualmente para la EP pasan por la α -syn. La disminución de los niveles totales de α -syn parece no ser la más viable ya que podría alterar las funciones fisiológicas normales de ésta ⁽¹⁰⁾, por lo que actualmente los esfuerzos se centran en impedir la agregación y el mal plegamiento de la α -syn antes de que ocurran, aumentar la degradación de las formas patológicas de α -syn, e inhibir su

propagación a otras células. Todas ellas muestran resultados experimentales bastante esperanzadores, aunque también se encuentran en fases iniciales de investigación. Aun así, hay motivos para creer que con el tiempo se podrá conseguir alguna terapia modificadora de enfermedad que mejore el pronóstico de estos pacientes.

CONCLUSIONES

- La α -syn es una proteína codificada por el gen SNCA que abunda en las terminales presinápticas de las neuronas (especialmente en neuronas dopaminérgicas) y su función principal es la modulación de la función de las vesículas sinápticas. La α -syn destaca también por ser el principal componente de los CLs lo que la relaciona estrechamente con la EP y otras patologías neurodegenerativas.
- La α -syn puede adoptar diferentes formas fisiológicas en función de su localización en el citoplasma (unida a membrana y soluble), pero ciertas alteraciones pueden provocar que se agregue formando entidades que están implicadas en la patogénesis de la EP.
- Los oligómeros de α -syn están formados por la agregación de α -syn y son la principal fuente de neurotoxicidad. Actúan produciendo alteraciones mitocondriales, metabólicas e inflamatorias que conducen la lesión y muerte neuronal
- Se ha descubierto que la α -syn puede diseminarse usando un mecanismo similar a los priones.
- La presencia de α -syn patológica en diferentes localizaciones hace que la medición de ésta en distintos tejidos pueda ser un método diagnóstico en un futuro.
- Las terapias frente a la α -syn patológica se centran en la disminución sus niveles de agregación y de propagación, y aumento de su degradación. Por el momento

muestran resultados prometedores que y con el tiempo, podrán llegar a crear una terapia alternativa para la EP.

- Se necesita intensificar el estudio en lo relativo a la α -syn, pero por el momento se trata de la vía más prometedora para poder acabar definitivamente con la EP.



BIBLIOGRAFÍA

1. Jankovic J. Etiology and pathogenesis of Parkinson disease. Uptodate.com. 2022 [cited 26 April 2022]. Available from: <https://www.uptodate.com/contents/etiology-and-pathogenesis-of-parkinson-disease?csi=6a4cdbda-d51c-4510-8335-424375a01951&source=contentShare>
2. Chou K. Clinical manifestations of Parkinson disease. Uptodate.com. 2022 [cited 26 April 2022]. Available from: https://www.uptodate.com/contents/clinical-manifestations-of-parkinson-disease?topicRef=4906&source=see_link
3. Spindler M, Hurtig H. Initial pharmacologic treatment of Parkinson disease. Uptodate.com. 2022 [cited 26 April 2022]. Available from: https://www.uptodate.com/contents/initial-pharmacologic-treatment-of-parkinson-disease?topicRef=4903&source=see_link
4. Burré J, Sharma M, Südhof TC. Cell Biology and Pathophysiology of α -Synuclein. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine* 2018;8(3):a024091.
5. Fitzgerald E, Murphy S, Martinson HA. Alpha-Synuclein Pathology and the Role of the Microbiota in Parkinson's Disease. *Frontiers in Neuroscience* 2019;13.
6. Du X, Xie X, Liu R. The Role of α -Synuclein Oligomers in Parkinson's Disease. *International Journal of Molecular Sciences* 2020;21(22):8645.
7. Rocha EM, De Miranda B, Sanders LH. Alpha-synuclein: Pathology, mitochondrial dysfunction and neuroinflammation in Parkinson's disease. *Neurobiol Dis* 2018;109:249-257.
8. Henderson MX, Trojanowski JQ, Lee VM-. α -Synuclein pathology in Parkinson's disease and related α -synucleinopathies. *Neurosci Lett* 2019;709:134316.
9. Eusebi P, Giannandrea D, Biscetti L, Abraha I, Chiasserini D, Orso M, et al. Diagnostic utility of cerebrospinal fluid α -synuclein in Parkinson's disease: A systematic review and meta-analysis. *Movement Disorders* 2017;32(10):1389-1400.
10. Førland MG, Öhrfelt A, Dalen I, Tysnes O, Blennow K, Zetterberg H, et al. Evolution of cerebrospinal fluid total α -synuclein in Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord* 2018;49:4-8.
11. Russo MJ, Orru CD, Concha-Marambio L, Giaisi S, Groveman BR, Farris CM, et al. High diagnostic performance of independent alpha-synuclein seed amplification assays for detection of early Parkinson's disease. *Acta Neuropathologica Communications* 2021;9(1):179.
12. Chang C, Yang S, Yang C, Chang C, Wu Y. Plasma and Serum Alpha-Synuclein as a Biomarker of Diagnosis in Patients With Parkinson's Disease. *Frontiers in Neurology* 2020;10.
13. Bu J, Liu J, Liu K, Wang Z. Diagnostic utility of gut α -synuclein in Parkinson's disease: A systematic review and meta-analysis. *Behav Brain Res* 2019;364:340-347.
14. Bougea A, Koros C, Stefanis L. Salivary alpha-synuclein as a biomarker for Parkinson's disease: a systematic review. *J Neural Transm* 2019;126(11):1373-1382.
15. Fields CR, Bengoa-Vergniory N, Wade-Martins R. Targeting Alpha-Synuclein as a Therapy for Parkinson's Disease. *Frontiers*.
16. Savitt D, Jankovic J. Targeting α -Synuclein in Parkinson's Disease: Progress Towards the Development of Disease-Modifying Therapeutics. *Drugs* 2019;79(8):797-810.
17. Fan T-S, Liu SC-H, Wu R-M. Alpha-Synuclein and Cognitive Decline in Parkinson Disease. *Life* 2021;11:1239.