



**MEMORIA DE TRABAJO DE FIN DE GRADO
GRADO EN FARMACIA**



Alfa-sinucleína: una proteína candidata a mediar en el mecanismo molecular del Parkinson. Aspectos moleculares e implicaciones terapéuticas.

Autora: María del Sol Rodríguez Algaba

Modalidad: Revisión bibliográfica

Tutor: Luis Miguel Gutiérrez Pérez

Sant Joan d'Alacant, Junio 2023

INDICE

1. RESUMEN
2. ABREVIATURAS
3. INTRODUCCIÓN
 - 3.1. SINTOMAS
 - 3.2. ETIOPATOGENIA
 - 3.3. TRATAMIENTO ACTUAL
 - 3.4. DIAGNÓSTICO DE LA EP
- 4.OBJETIVOS
- 5.MATERIAL Y MÉTODOS
 - 5.1. DISEÑO
 - 5.2. ESTRATEGIA DE BÚSQUEDA
 - 5.3. CRITERIOS DE SELECCIÓN
- 6.RESULTADOS
 - 6.1. ESTRUCTURA DE ALFA SINUCLEÍNA Y LOCALIZACIÓN
 - 6.2. FUNCIÓN DE LA ALFA SINUCLEÍNA
 - 6.3. AGREGACIÓN Y FORMACIÓN DE FIBRAS
 - 6.3.1. FACTORES QUE AFECTAN A LA AGREGACIÓN
 - 6.3.1.1. MUTACIONES
 - 6.3.1.2. MODIFICACIONES POSTRADUCCIONALES
 - 6.3.1.3. PESTICIDAS Y METALES
 - 6.3.2. FACTORES QUE PROTEGEN DE LA AGREGACIÓN
 - 6.4. PROPAGACIÓN DE AS
 - 6.4.1. EXOCITOSIS Y ENDOCITOSIS DE AS
 - 6.5. PAPEL DE AS EN LA ENFERMEDAD DE PARKINSON
 - 6.6. TRATAMIENTO DIRIGIDO A AS
- 7.DISCUSION
- 8.CONLUSIONES
- 9.BIBLIOGRAFÍA

1. RESUMEN

La enfermedad de Parkinson (EP) es una enfermedad neurodegenerativa progresiva la cual se caracteriza por la pérdida de neuronas dopaminérgicas de la sustancia negra provocando síntomas motores y neurológicos. Esta pérdida dopaminérgica se asocia a la aparición de cuerpos de Lewy que están compuestos por una proteína: alfa-sinucleína (AS). ⁽¹⁾ La agregación anormal de esta proteína está asociada a la degeneración de las neuronas en la EP. ⁽²⁾

La enfermedad de Parkinson se desarrolla a partir de diferentes elementos como son la edad, el entorno ambiental y la genética. Cabe destacar que esta patología es genéticamente heterogénea y cada individuo desarrolla una forma diferente de enfermedad.

El inicio molecular de la EP probablemente se debe a décadas antes de que aparezcan los síntomas motores característicos de la EP, por lo que un diagnóstico temprano podría ser muy útil para una mejor calidad del paciente.

En este trabajo se van a abarcar diferentes aspectos sobre la enfermedad del Parkinson. Se extraerá toda la información más actual sobre la proteína AS la cual nos va a proporcionar información sobre esta enfermedad ya que no se tiene conocimiento completo de ella y además podría ser una posible diana para nuevos tratamientos.

2. ABREVIATURAS

EP, enfermedad de Parkinson; AS, Alfa-sinucleína; LCR, líquido cefalorraquídeo; L-DOPA, Levodopa; SNC, sistema nervioso central; IMAO-B, Inhibidores de la monoaminoxidasa B; COMT, catecol-orto-metil-transferasa; TPPP/p25, proteína promotora de la polimerización de tubulina; EGCG, Epigallocatequina 3-galato; RPM, revoluciones por minuto; NM, nanómetro; ROS, especies reactivas de oxígeno; TH, tirosina hidroxilasa; TNT, nanotubos de túnel; LAG3, gen 3 de activación de linfocitos;

3. INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Parkinson es el segundo trastorno neurodegenerativo más común después del Alzheimer y pertenece a los llamados Trastornos del Movimiento. Esta enfermedad presenta tanto síntomas motores como no motores, su mecanismo molecular, causa de la muerte neuronal, sigue sin saberse. Además, la EP presenta un manejo terapéutico hoy en día.

3.1. SINTOMAS

La EP se caracteriza por disfunciones motoras las cuales incluyen temblor en reposo, bradicinesia, rigidez e inestabilidad motora. Todos estos síntomas aparecen como consecuencia de la pérdida de neuronas dopaminérgicas en la sustancia negra *pars compacta* que se proyecta al cuerpo estriado el cual está implicado en la regulación del movimiento. Además, también es debido a la acumulación de AS formando los cuerpos de Lewy. ⁽³⁾

Los síntomas no motores que presenta la enfermedad de Parkinson son: alteraciones neurológicas, trastornos del sueño, trastornos digestivos, alteraciones sensoriales etc.

3.2. ETIOPATOGENIA

Existen varios factores que intervienen en el inicio de la enfermedad de Parkinson. Estos son la edad, la genética y factores medioambientales.

1) **Edad:** Este es un claro factor en la EP, cuánta más edad mayor es el riesgo de padecerla.

2) **Genética:** Cabe destacar que no todas las formas de EP son genéticas, son idiopáticas (no se sabe la causa). Existen diferentes causas genéticas en esta enfermedad:

- Se han identificado genes implicados en EP hereditarias: los genes PARK. Estos genes codifican diferentes proteínas como son la AS, LRRK2, VPS35, parquin, PINK1 y DJ1. Además, se ha observado que varias proteínas PARK intervienen en la neuroinflamación. ⁽⁴⁾

-El gen 3 de activación de linfocitos (LAG3) pertenece a la familia de las inmunoglobulinas. Se ha observado que este gen tiene un papel clave en la EP ya que se une a las fibrillas de AS afectando así a su endocitosis y su transporte intercelular. Esto nos muestra una clara relación entre el sistema inmunitario y la EP. Además, se ha demostrado también que la presencia de LAG3 en suero y en LCR está claramente relacionado con el desarrollo de la enfermedad de Parkinson. ⁽⁵⁾

-Mutaciones en el gen SNCA (A53T, A30P, E46K, H50Q, G51D y A53E) se han asociado con la EP autosómica dominante. ⁽⁶⁾

-Mutación en el gen GBA1: Aproximadamente el 5-30% de los pacientes que padecen EP la tienen. Esta mutación, se considera el factor de riesgo genético más importante para contraer esta enfermedad. ⁽⁷⁾

3) Factores medioambientales: Toxinas ambientales como rotenona, MPTP, paraquat y MPP⁺ inducen estrés oxidativo que es uno de los causantes de la EP. ⁽⁸⁾

4) Otros: La etiología de la EP está relacionada por cambios que se producen en la proteína AS.

-Por otra parte, se observó en un estudio animal que la interacción dopamina-AS causaba neurodegeneración y pérdida motora. ⁽⁹⁾

-Actualmente ha cobrado importancia un proceso catabólico: la autofagia. Modelos experimentales han demostrado que la autofagia está implicada en la neurodegeneración de la EP. A nivel molecular se ha observado que la señalización de p38 participa en la enfermedad y en esta vía de p38, participa AS y LRRK2 interfiriendo en la señalización de GTPasa que son moduladores que activan p38. En conclusión, se puede afirmar que tanto AS como LRRK2 participan junto con GTPasa-p38 en la autofagia de la EP. ⁽¹⁰⁾

Lo comentado anteriormente son algunos de los factores que pueden contribuir a padecer EP, aunque hay que destacar que no se conoce la etiología concreta de la EP.

3.3. TRATAMIENTO ACTUAL

La estrategia terapéutica en la EP se basa en aumentar la actividad dopaminérgica central. Se puede llevar a cabo mediante dos vías:

1) Directa: Levodopa y agonistas dopaminérgicos

-Levodopa: Es el tratamiento más utilizado en la EP y se prescribe junto con carbidopa para que la cantidad de dopamina periférica sea menor en comparación con el SNC. El tratamiento crónico de levodopa no frena la enfermedad y tiene consecuencias como variaciones motoras y discinesia. ⁽¹¹⁾

-Agonistas dopaminérgicos: Un ejemplo de agonista dopaminérgico de receptores D2 es la bromocriptina. Presentan una semivida mayor que la levodopa pero tienen menor efecto. ⁽¹²⁾

-Amantadina: Es un blanco no dopaminérgico y antagonista del receptor de N-metil-d-aspartato. ⁽¹²⁾

2) Indirecta: Inhibidores de la monoaminoxidasa B (IMAO-B) y de la catecol-orto-metil-transferasa (COMT).

- IMAO-B: Son inhibidores de la MAO-B, ésta metaboliza la dopamina que se encuentra en la hendidura sináptica. Esta inhibición provoca que haya más concentración en el cerebro. ⁽¹¹⁾

Son la selegilina y la rasagilina, estudios han demostrado que la rasagilina es mucho más potente que la selegilina. Por otro lado, también se ha demostrado que los IMAO-B participan en la agregación de la AS pudiendo retrasar así la progresión de la EP. ⁽¹¹⁾

Utilizarlos como monoterapia es útil en etapas iniciales y como coadyuvantes con levodopa en etapas avanzadas. ⁽¹¹⁾

Cabe destacar que existe otro IMAO-B llamado safinamida, que en combinación con la levodopa alivia las fluctuaciones motoras y la discinesia que ésta produce. Por lo tanto, cambiar la rasagilina por safinamida mejora los síntomas comentados anteriormente y es más eficaz que otros IMAO-B. ⁽¹³⁾

-COMT: Los inhibidores de la COMT son tolcapona y entacapona. Inhiben la enzima catecol-o-metil-transferasa (COMT) lo que permite que no se degrade la levodopa periférica para que haya más concentración en el SNC.

Se utilizan como coadyuvantes con la levodopa. El que más se utiliza es la entacapona puesto que la tolcapona se asocia con síntomas de hepatitis fulminante. ⁽¹⁴⁾

3.4. DIAGNÓSTICO DE LA EP:

Primeramente, el diagnóstico de la EP se basa en percibir los síntomas motores (temblores de reposo, rigidez y bradicinesia) y síntomas no motores como estreñimiento, disfunción cognitiva, depresión etc.

Por otra parte, algunas de las opciones para el diagnóstico de la EP con instrumentación son: La tomografía computarizada por emisión de fotón único con transportador DA, la imagen ponderada por difusión de resonancia magnética, la resonancia magnética estructural y pruebas genéticas. ⁽¹²⁾

Un rasgo característico de los pacientes que padecen EP, es que presentan problemas y deterioro de la visión (agudeza visual, visión del color, sensibilidad de contraste). Estudios han demostrado que los agregados de AS están presentes en la retina de personas con EP, por lo tanto, este hecho podría ser útil como biomarcador de la enfermedad para poder diagnosticarla a tiempo y poder tener una actuación temprana. ⁽³⁾

4. OBJETIVOS

El objetivo de este trabajo es realizar una revisión de la información más actual en diferentes bases de datos en lo relacionado a la EP y la implicación de AS. Por ello, se ha buscado artículos de interés en lo relativo a los aspectos moleculares, estructurales y la participación de la AS en la enfermedad de Parkinson con el fin de buscar nuevas intervenciones terapéuticas.

5. MATERIAL Y MÉTODOS

5.1. DISEÑO

Se realizó una búsqueda y revisión sistemática (por su elevada evidencia científica) de los artículos científicos más actuales que abordaran los temas mencionados en el apartado anterior. La búsqueda se hizo de manera digital mediante la base de datos Medline (vía Pubmed) ya que es un medio muy recurrido en ciencias de la salud por su elevado contenido en artículos de interés. Se establecieron unos criterios de inclusión y exclusión para que la búsqueda fuese más concreta.

5.2. ESTRATEGIA DE BÚSQUEDA

Para realizar la búsqueda, se asignaron las siguientes palabras clave: *Alpha-synuclein, parkinson, molecular mechanism, therapy, drugs, antiparkinsonian*

En primer lugar, se llevó a cabo una búsqueda específica a través de Medline (vía Pubmed). Se introdujo en el buscador de Pubmed la siguiente ecuación: *Alpha-synuclein and parkinson and molecular mechanism*, lo cual proporcionó un gran número de artículos utilizados para llevar a cabo este trabajo, pero la falta de información sobre el tratamiento en la EP hizo que se introdujera la siguiente ecuación de búsqueda: *therapy and parkinson and drugs and antiparkinsonian*.

5.3. CRITERIOS DE SELECCIÓN

Para llevar a cabo esta búsqueda, se incluyeron varios filtros que acotaron nuestra búsqueda y la hicieron más específica. El filtro utilizado fue incluir el término “revisión”, y se puso un intervalo de tiempo desde el 2018 hasta el 2023 ya que en este trabajo se precisa y se necesita los artículos más recientes para que sea lo más actual posible.

Por otra parte, tras la lectura de los títulos y el abstract de cada artículo, se han seleccionado los que más interesaban para abordar los temas a tratar en este trabajo (Apartado 4). Los artículos seleccionados fueron los de libre acceso y los que pusieran (*free PMC article*), de esta manera se ha podido descargar los artículos completos para tener un mayor acceso a la información completa.

Por último, los criterios de exclusión fueron:

- Artículos que no proporcionaban información relevante.
- Artículos que fuesen más antiguos que otros ofreciendo información similar.
- Artículos que eran demasiado complejos por centrarse en aspectos muy restringidos del problema tratado.

5.4. RESULTADOS DE LA BÚSQUEDA

En primer lugar, con la ecuación *Alpha-synuclein and parkinson and molecular mechanism* y sin filtros aparecían 1.693 artículos. Al añadir los filtros de *revisar* y el intervalo de tiempo se nos quedaba en 276.

Por último, para la búsqueda centrada en el tratamiento se utilizó la ecuación *therapy and parkinson and drugs and antiparkinsonian* y en un principio se mostraron 4.094. Tras poner el filtro de tiempo (intervalo de 2020-2023) se redujo a 137.

TÍTULO	AÑO DE PUBLICACIÓN	AUTORES
The Role of Cholesterol in α -Synuclein and Lewy Body Pathology in GBA1 Parkinson's Disease	2021	García-Sanz P, M F G Aerts J, Moratalla R
Modeling Parkinson's Disease With the Alpha-Synuclein Protein	2020	Gómez-Benito M, Granado N, García-Sanz P, Michel A, Dumoulin M, Moratalla R
Dopamine, Alpha-Synuclein, and Mitochondrial Dysfunctions in Parkinsonian Eyes	2020	Indrieri A, Pizzarelli R, Franco B, De Leonibus E
The cell biology of Parkinson's disease	2021	Panicker N, Ge P, Dawson VL, Dawson TM
Lymphocyte-Activation Gene 3 (LAG3) Protein as a Possible Therapeutic Target for Parkinson's Disease: Molecular Mechanisms Connecting Neuroinflammation to α -Synuclein Spreading Pathology	2020	Angelopoulou E, Paudel YN, Villa C, Shaikh MF, Piperi C
Alpha-Synuclein: Mechanisms of Release and Pathology Progression in Synucleinopathies	2021	Brás IC, Outeiro TF

GBA1 Gene Mutations in α -Synucleinopathies-Molecular Mechanisms Underlying Pathology and Their Clinical Significance	2023	Granek Z, Barczuk J, Siwecka N, Rozpędek-Kamińska W, Kucharska E, Majsterek I
SH-SY5Y Cell Line In Vitro Models for Parkinson Disease Research-Old Practice for New Trends	2023	Ioghen OC, Ceafalan LC, Popescu BO
The usual suspects, dopamine and alpha-synuclein, conspire to cause neurodegeneration	2019	Mor DE, Daniels MJ, Ischiropoulos H
A new hypothesis for Parkinson's disease pathogenesis: GTPase-p38 MAPK signaling and autophagy as convergence points of etiology and genomics	2018	Obergasteiger J, Frapporti G, Pramstaller PP, Hicks AA, Volta M
Monoamine Oxidase-B Inhibitors for the Treatment of Parkinson's Disease: Past, Present, and Future	2022	Tan YY, Jenner P, Chen SD
Signaling pathways in Parkinson's disease: molecular mechanisms and therapeutic interventions	2023	Dong-Chen X, Yong C, Yang X, Chen-Yu S, Li-Hua P
Switching from Rasagiline to Safinamide as an Add-On Therapy Regimen in Patients with Levodopa: A Literature Review. Brain Sci	2023	Sanchez Alonso P, De La Casa-Fages B, Alonso-Cánovas A, Martínez-Castrillo JC
Newly Approved and Investigational Drugs for Motor Symptom Control in Parkinson's Disease. Drugs	2022	Di Luca DG, Reyes NGD, Fox SH
Alpha-synuclein and cognitive impairment in Parkinson's disease	2021	Fan TS, Liu SC, Wu RM
Alpha synuclein, Proteotoxicity and Parkinson's Disease: Search for Neuroprotective Therapy	2018	Ganguly U, Chakrabarti SS, Kaur U, Mukherjee A, Chakrabarti S
Cell Biology and Pathophysiology of α -Synuclein	2018	Burré J, Sharma M, Südhof TC

In vitro models of synucleinopathies: informing on molecular mechanisms and protective strategies	2019	: Marvian AT, Koss DJ, Aliakbari F, Morshedi D, Outeiro TF
Multiplicity of α -Synuclein Aggregated Species and Their Possible Roles in Disease	2020	Gracia P, Camino JD, Volpicelli-Daley L, Cremades N
events underlying the cell-to-cell transmission of α -synuclein	2021	Choi YR, Park SJ, Park SM
Internalization, axonal transport and release of fibrillar forms of alpha-synuclein	2018	: Bieri G, Gitler AD, Brahic M
The concept of alpha-synuclein as a prion-like protein: ten years after	2018	Steiner JA, Quansah E, Brundin P
Interactions of dopamine, iron, and alpha-synuclein linked to dopaminergic neuron vulnerability in Parkinson's disease and Neurodegeneration with Brain Iron Accumulation disorders	2022	Wise RM, Wagener A, Fietzek UM, Klopstock T, Mosharov EV, Zucca FA, Sulzer D, Zecca L, Burbulla LF
Molecular chaperones and Parkinson's disease	2021	Hu S, Tan J, Qin L, Lv L, Yan W, Zhang H, Tang B, Wang C
Glucocerebrosidase as a therapeutic target for Parkinson's disease	2020	Chen Y, Sam R, Sharma P, Chen L, Do J, Sidransky E
Pharmacological targeting of α -synuclein and TPPP/p25 in Parkinson's disease: challenges and opportunities in a Nutshell	2019	Oláh J, Ovádi J
Recent Advances in Drug Therapy for Parkinson's Disease	2023	Murakami H, Shiraishi T, Umehara T, Omoto S, Iguchi Y
VPS35-Based Approach: A Potential Innovative Treatment in Parkinson's Disease	2019	Eleuteri S, Albanese A
Epigallocatechin-3-gallate: A phytochemical as a promising drug candidate for the treatment of Parkinson's disease	2022	Wang Y, Wu S, Li Q, Lang W, Li W, Jiang X, Wan Z, Chen J, Wang H

Tabla 1. Artículos seleccionados en Pubmed.

6. RESULTADOS

6.1. ESTRUCTURA DE ALFA SINUCLEÍNA Y LOCALIZACIÓN

La AS es una proteína de 140 aminoácidos que es codificada por el gen *SNCA*. La proteína tiene tres regiones diferenciadas y dependiendo de la composición que tenga los aminoácidos que forman parte de cada región, estas tendrán propiedades fisicoquímicas diferentes: ^(15,16)

-Región N-terminal (residuos 1-60): Contiene secuencias repetidas de KTKEGV (permite la interacción con las membranas). Esta región tiene capacidad de unión a la membrana anfipática. ^(15,16)

- Región NAC (componente no amiloide) (hidrofóbica): Esta zona es la más propensa a la agregación de la proteína formándose así las protofibrillas y fibrillas. Por otro lado, aquí se encuentran los residuos del 61-95. ^(15,16)

-Región C-terminal (residuos 96-140): Dominio carboxilo-terminal cargado negativamente. Esta zona previene la fibrilación de la AS interactuando con la región NAC. La pérdida de residuos ácidos debida al truncamiento produce que se formen de fibrillas. ^(15,16)

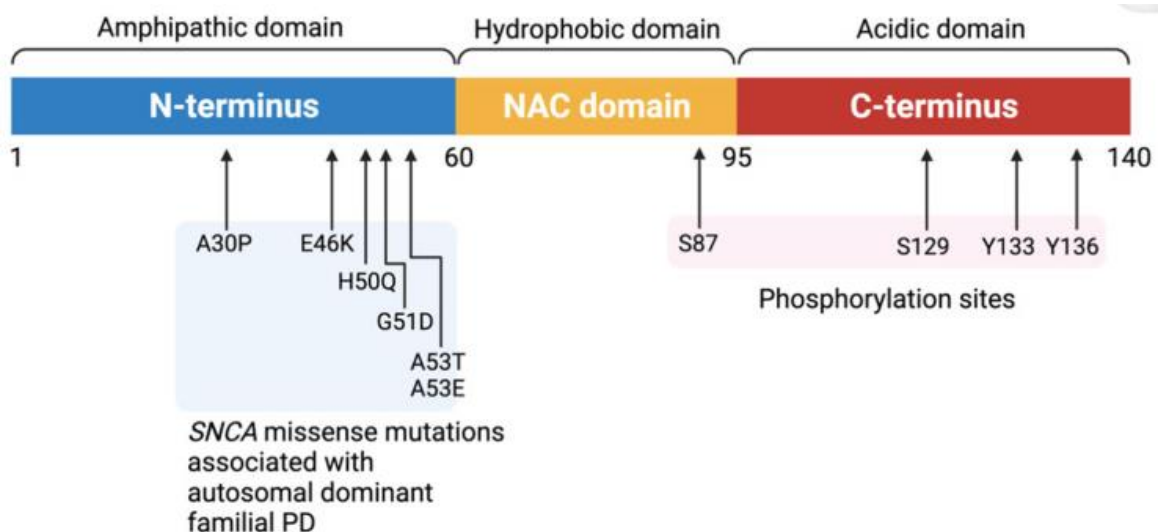


Figura 1. Estructura diferenciada en colores de la proteína AS. En azul encontramos la región N-terminal, donde se producen las principales mutaciones AS (A30P, E46K, H50Q, G51D, A53T, A53E) que se asocian con la EP. En naranja la región NAC (hidrofóbica) y en rojo la región C-terminal. ⁽¹⁵⁾

La podemos encontrar en las neuronas y más abundantemente en las regiones presinápticas, pero no se limita solo en los tejidos nerviosos, sino que se ha detectado en otras zonas del cuerpo como en el riñón, pulmón, corazón, (LCR) etc. ^(16,17)

6.2. FUNCIÓN DE LA ALFA SINUCLEÍNA

Su función todavía no se ha podido aclarar por completo, aunque esta proteína se relaciona con alguna de estas funciones:

-Transporte y empaquetamiento de lípidos: La AS se relaciona con esta función debido a que es similar a las apolipoproteínas del tipo A2. Estudios han confirmado que la AS se une a ácidos grasos y actúa transportándolos. Por otro lado, se ha demostrado provoca la curvatura de la membrana, que inhibe las fosfolipasas D1 y D2 y que detecta fallos en el empaquetamiento de lípidos. ⁽¹⁷⁾

-Actividad de proteína chaperona: Su estructura permite que se una a otras proteínas intracelulares. Estudios demuestran que cumple dicha función ya que comparte estructura y función equivalente con la familia 14-3-3 de chaperonas. ⁽¹⁷⁾

-Tráfico de vesículas: La AS participa en el tránsito de vesículas entre el aparato de Golgi y el retículo endoplasmático. La AS mutante (A30P) interactúa con rab3a, rab5 y rab8, participando así en la endocitosis y en el transporte de vesículas sinápticas. ⁽¹⁷⁾

-Síntesis y transporte de dopamina: La tirosina hidroxilasa (TH) es necesaria para la síntesis de dopamina. La AS inhibe la síntesis de dopamina porque inhibe la expresión de la TH. Por otra parte, afecta al transporte de dopamina porque la

AS interfiere con VMAT2 (transportador vesicular de transporte de dopamina).
(17)

-Liberación de neurotransmisores: Estudios han demostrado que la AS participa promoviendo, inhibiendo o no tiene efecto sobre la liberación de neurotransmisores. La AS se encuentra en las terminaciones presinápticas participando en el tránsito de vesículas sinápticas y agrupando vesículas ya que se une a la sinaptobrevina-2. Por lo tanto, se cree que la liberación de neurotransmisores no es causa de un efecto directo en la neurosecreción, sino por interferir en la acumulación de vesículas dentro de la terminal presináptica.
(17)

-Producción de ROS: Estudios han visto que la sobreexpresión de AS inhibe el complejo I y altera la membrana mitocondrial produciendo así las especies reactivas de oxígeno. (17)

6.3. AGREGACIÓN Y FORMACIÓN DE FIBRAS

La agregación y formación de fibras está asociado a la neurodegeneración en la EP. Esto se debe a que la agregación de AS provoca una pérdida de función de la misma porque ésta es utilizada para la agregación y no puede realizar su función vital y por otro lado, los agregados de AS provocan toxicidad. (18)

Friedrich Lewy fue el primero en observar que los pacientes que sufrían la EP presentaban inclusiones de proteínas en sus cerebros, más adelante recibieron el nombre de cuerpos de Lewy y que éstos estaban formados por AS. (18)

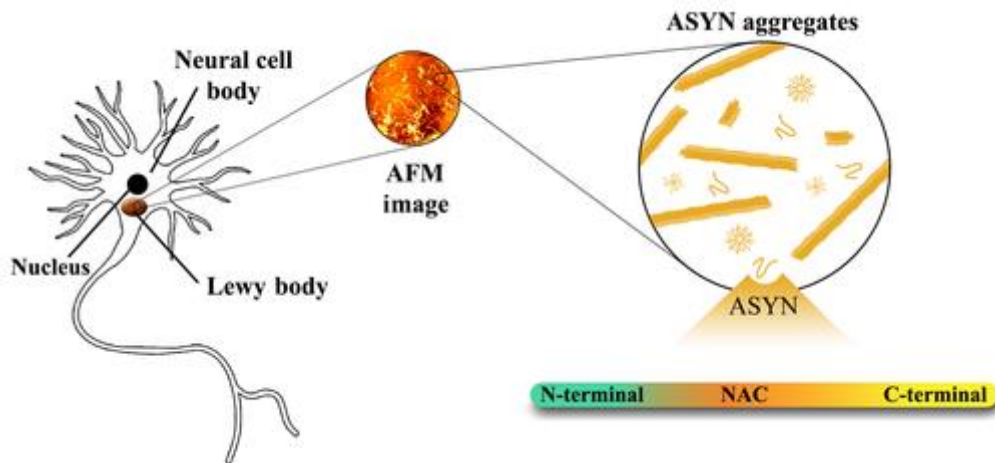


Figura 2. En esta imagen se observa las inclusiones proteicas (LB) en la neurona que contienen AS (fibrillas y oligómeros), es el sello mas distintivo de la EP. ⁽¹⁸⁾

La agregación de proteínas en estructuras fibrilares se llama fibrilación. En este proceso intervienen dos pasos, nucleación (se considera el paso limitante en la velocidad de fibrilación) y elongación. Primero ocurre la nucleación en la que se forman especies oligoméricas intermedias. En la fase de elongación, se agregan éstas formando estructuras fibrilares. Estos son diferentes agregados de AS con propiedades y funciones diferentes. ⁽⁵⁷⁾ Se ha identificado las formas tóxicas de AS, los oligómeros anulares y globulares están relacionados con la toxicidad. ⁽¹⁸⁾

Estos agregados, por lo tanto, causan una serie de efectos tóxicos en las células, como disfunción mitocondrial y lisosomal, estrés oxidativo, desequilibrio de iones, y finalmente provoca la muerte celular. ⁽¹⁹⁾

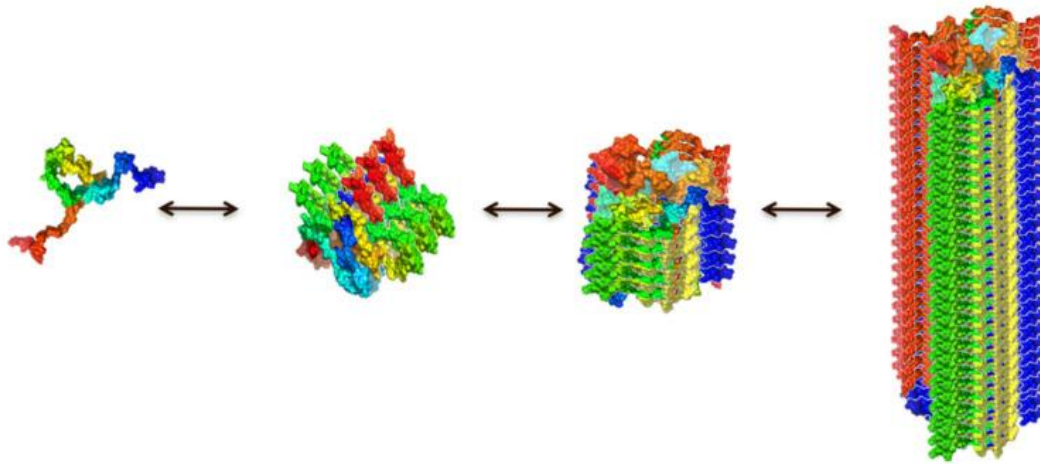


Figura 3. Imagen muestra el proceso de formación de amiloide. Primero se forman compuestos intermedios (oligómeros) y por último, la fibra de AS formada completamente. ⁽¹⁹⁾

6.3.1. FACTORES QUE AFECTAN A LA AGREGACIÓN

6.3.1.1. MUTACIONES

Estudios asocian mutaciones con la agregación de AS. Por ejemplo, el gen A53T y H50Q favorecen tanto la oligomerización como fibrilación. La mutación de A30P favorece solo la oligomerización y dificulta la producción de fibrillas. Las mutaciones A53E y G51D inhiben la oligomerización y la fibrilación. En otras mutaciones relevantes para la enfermedad, no se agrega la AS por lo que nos indica que la agregación de la proteína no es el único mecanismo de toxicidad. ⁽¹⁸⁾

6.3.1.2. MODIFICACIONES POSTRADUCCIONALES

La AS sufre diferentes modificaciones postraduccionales, estas intervienen en el proceso de fibrilación de la proteína. Entre estas modificaciones encontramos:

-Fosforilación: Afecta a la estructura, unión a la membrana, oligomerización, formación de fibrillas. La serina 87 y la serina 129 de la AS son los principales sitios de fosforilación. Estudios afirman que la fosforilación de serina 129 puede facilitar a la vez que inhibir la agregación de la proteína y que la fosforilación de serina 89, inhibe la oligomerización y la fibrilación. ^(17, 18)

-Acetilación: La acetilación de AS presenta resistencia a la agregación. ⁽¹⁷⁾

-Sumoilación: AS sufre este proceso en la región N-terminal (aunque aún no se ha descubierto el sitio exacto) por SUMO1. Estudios han descrito que la sumoilación de AS inhibe la agregación de AS porque la hace más soluble. ⁽¹⁷⁾

-Ubiquitinación: Por ahora, se sabe poco sobre lo que afecta la ubiquitinación al proceso de agregación de AS. Sin embargo, hay estudios que afirman que la ubiquitinación se produce en algunos residuos de lisina (La AS está ubiquitinada en K10, K21, K23, K32, K34, K43 y K96, siendo K21, K23, K32 y K34 los sitios principales) y que parece inhibir la oligomerización y la fibrilación. ^(17, 18)

-Glicación: La glicación de AS acelera la agregación de la misma. ⁽¹⁷⁾

-Glicosilación: En los residuos 53, 64 y 72. Estudios sugieren que la glicosilación de AS en el dominio NAC inhibe la agregación. ⁽¹⁷⁾

-Nitración y oxidación: La nitración se produce en las siguientes tirosinas (Y39, Y125, Y133 e Y136, siendo Y125 e Y39 los principales). La nitración y la oxidación, generalmente son inhibitorias de la formación de fibrillas, pero pueden promover la oligomerización de AS. ^(17,18)

-Proteolisis: El truncamiento de AS en la región C-terminal aumenta el proceso de fibrilación. ^(17,18)

6.3.1.3. PESTICIDAS Y METALES

Como se ha comentado anteriormente, el proceso de agregación de la AS puede estar afectado por factores endógenos y por factores externos. En este último grupo entran metales y pesticidas ya que estudios los han asociado con la EP. Se ha informado que plaguicidas como diclorodifeniltricloroetano, dieldrina, paraquat y rotenona, aumentan la fibrilación de AS. Iones metálicos como Fe^{3+} , Co^{3+} , Al^{3+} , Cu^{2+} , Cd^{2+} , y Mn^{2+} favorecen la fibrilación de AS. Otros iones que favorecen la oligomerización de la proteína son Fe^{3+} , Cu^{2+} , Co^{2+} , y Ca^{2+} . Estos cambios de conformación en la estructura son resultado de que los iones proporcionan cargas positivas desestabilizando la carga de la proteína (disminuye la carga negativa). Por otra parte, se ha informado que plaguicidas como diclorodifeniltricloroetano, dieldrina, paraquat y rotenona, aumentan la fibrilación de AS. ⁽¹⁸⁾

6.3.2. FACTORES QUE PROTEGEN DE LA AGREGACIÓN

Estudios recientes han revelado que proteínas endógenas como las sinucleínas β - y γ - influyen en la agregación de AS cuando se incuban juntas. Se ha observado que añadiendo β -sinucleína a los ensayos, ésta reduce la fibrilación. Por otra parte, otras proteínas de choque térmico como (HSP) también actúan inhibiendo la fibrilación ya que se unen a AS interrumpiendo la nucleación y elongación. ⁽¹⁸⁾

Por otra parte, estudios han observado que fitoquímicos naturales (polifenoles, flavonoides etc) son beneficiosos para la EP. Estos compuestos naturales han demostrado ser útiles inhibiendo el proceso de agregación de AS. Por ejemplo, flavonoides como baicaleína y galato de epigallocatequina y fenoles como la miricetina, la curcumina y el ácido rosmarínico inhiben la oligomerización y fibrilación de AS. Por consiguiente, compuestos que tienen catecol (ácido gálico y ácido cafeico) inhiben también la agregación de AS. ⁽¹⁸⁾

6.4. PROPAGACIÓN DE AS

En un principio se creía que la AS se encontraba únicamente en una parte del cerebro, sin embargo, se observó una progresión patológica de cuerpos de Lewy (pérdida neuronal) en otras áreas. La primera vez que se observó AS extracelular fue en el LCR y plasma sanguíneo (ahora se sabe que puede encontrarse también en LCR y plasma de personas sanas), aunque a día de hoy se sabe que la AS se puede encontrar en otras áreas como en el riñón, pulmón y corazón. ^(2, 17)

Debido a un estudio post mortem de personas con EP surgió la hipótesis de que la AS se diseminaba similar a los priones (de célula a célula). Estas personas recibieron injertos de tejido cerebral fetal y tras la muerte de ellos, se vio que las neuronas que habían sido injertadas tenían cuerpos de Lewy y eran idénticas a las de pacientes con EP lo que subiere que AS se puede propagar desde las células huésped hasta las injertadas. ^(2, 17)

Aunque hay estudios que respaldan esta teoría priónica de la AS han surgido otros resultados que cuestionan esta hipótesis. Debido a ello, se planteó que hay grupos específicos de neuronas vulnerables a estímulos específicos, como por ejemplo, la neuroinflamación. Estudios han observado que la neuroinflamación puede contribuir a la propagación de AS y a la activación de la microglía. Cuando ésta se activa, libera citocinas tóxicas (caspasa-1 y calpaínas) favoreciendo la agregación y propagación de AS. ⁽²⁾

Por lo tanto, las dos hipótesis comentadas anteriormente (la del prión y vulnerabilidad selectiva) pueden estar interconectadas, retroalimentándose positivamente y podría ocurrir una combinación de ambas. ⁽²⁾

6.4.1. EXOCITOSIS Y ENDOCITOSIS DE AS

Aunque los mecanismos de liberación de AS al espacio extracelular no se comprenden aún por completo, parece ser que la AS se libera a través de exocitosis. Según estudios, la AS se libera tanto en su forma monomérica como

agregada con los exosomas para degradarse en los lisosomas. Esta liberación parece depender de calcio y una vez que la AS se encuentra en el espacio extracelular puede internalizarse mediante endocitosis por neuronas y la microglía, lo que sugiere que se propaga así a lo largo de las sinapsis neuronales. ^(2,20)

- Liberación de AS

AS se libera al espacio extracelular en su forma libre y unida a la membrana, este proceso es dependiente de calcio. Estudios informan que una desubiquitinasa asociada al retículo endoplasmático (USP19) y DnaJC5/Hsc70 inducen a la secreción de AS mediante la vía MAPS, la cual es un mecanismo que controla la calidad de las proteínas y secreta las proteínas que tienen un plegamiento erróneo, dirigiéndolas al citosol para su posterior degradación. Por otro lado, se observó que también facilita esta secreción no convencional de AS laTPPP/p25 α . ⁽²⁰⁾

Se demostró también por otro lado, que la exposición a Mn^{2+} facilita la secreción de AS a través de los exosomas y que la gran mayoría de AS es liberada con la fracción no exosomal (el 0.1–2% de AS es secretado con vesículas), por lo tanto, se puede afirmar que solo una pequeña proporción de AS es secretada por exosomas. ⁽²⁰⁾

Existen canales que conectan las células y que transfieren intercelularmente materiales: Nanotúbulos de túnel (NTT). Se propuso la hipótesis de que los NTT participaban en la transferencia de AS entre células, por lo que más tarde se vio que esta transferencia está regulada por una cascada llamada Wnt/ Ca^{2+} , esta teoría no se ha demostrado aún in vivo. ⁽²⁰⁾

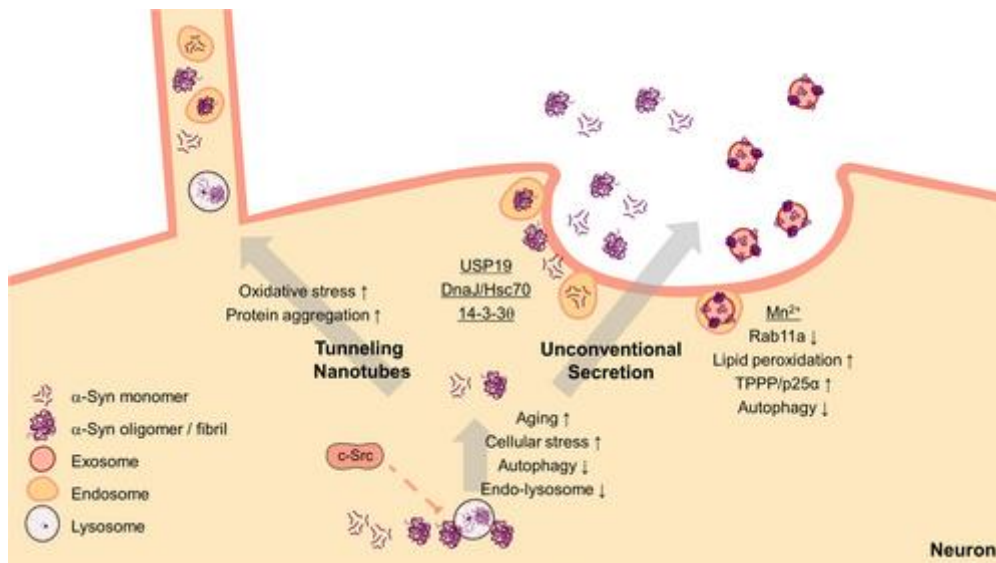


Figura 4. Imagen que muestra los mecanismos que pueden intervenir en la liberación de AS. Como se puede observar USP19 y DnaJC5/Hsc70 facilitan la secreción de AS y a través de los TNT se transfiere la AS a las células contiguas. (20)

- Internalización de AS

Una vez que la AS ha sido liberada por las neuronas, ésta puede ser internalizada por células vecinas (neuronas, astrocitos y microglía) o degradada por proteasas extracelulares (como la plasmina). (20)

La AS puede ser internalizada tanto en su forma de oligómero como fibrilar por el proceso de endocitosis. Esta endocitosis es mediada por receptores, cuya interacción provoca cambios de conformación que provoca su entrada a través de la membrana plasmática. (20, 21)

Por otro lado, estudios se centraron en la captación de AS mediada por LAG3 (gen 3 de activación de linfocitos). Se demostró que LAG3 participa en la unión y endocitosis de AS, se quitó del estudio LAG3 y se redujo pero no por completó la propagación y agregación de AS. Estos resultados podrían ser de gran importancia para enfocar a LAG3 como posible diana farmacológica. (20, 21)

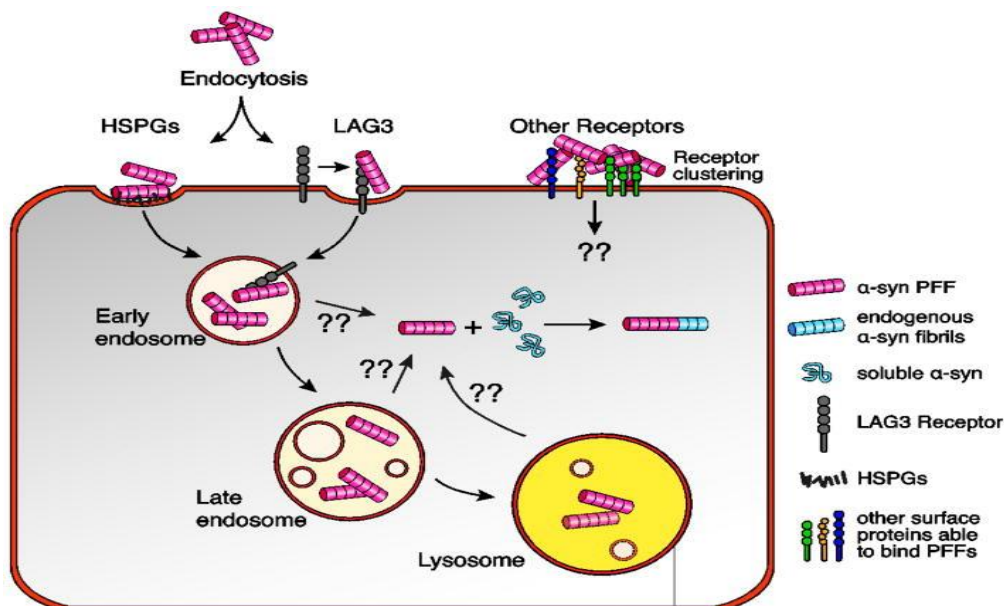


Figura 5. En esta imagen se muestra la internalización de fibrillas de AS mediante endocitosis. El receptor LAG3 y HSPG median y favorecen la absorción de AS. La mayoría de AS internalizada es destinada para su degradación en los lisosomas, aunque por otra parte, los agregados que han sido absorbidos por la célula pueden provocar la ruptura de vesículas endocíticas escapando así al citosol y formando AS endógeno. (20, 21)

La captación de fibras de AS, la endocitosis y la rotura de vesículas endosomales podrían ser objetivos farmacológicos para prevenir la transmisión de la patología entre neuronas contiguas.

- Transporte axonal de AS:

Mediante estudios realizados con ratones, se pudo observar el transporte axonal de AS. El estudio consistió en separar físicamente el soma y los axones en dos canales aislados, por lo tanto, si la AS añadida en el soma aparecía en el compartimento del axón es porque se había producido transporte activo por los axones (sentido anterógrado). Se pudo observar en el estudio que el transporte

de AS se producía tanto en sentido anterógrado como retrógrado (más abundante y más eficiente).⁽²¹⁾

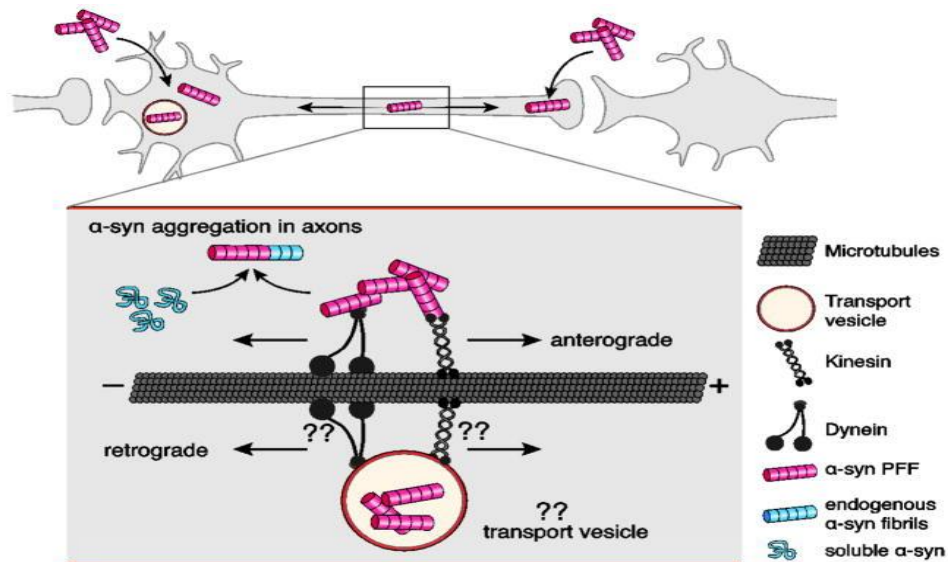


Figura 6. La imagen muestra como las fibras de AS pueden circular tanto por la dendrita como por los axones en sentido anterógrado y retrógrado. Se puede observar como las kinesinas y dineínas transportan la AS (por cargas) a lo largo del axón.⁽²¹⁾

6.5. PAPEL DE AS EN LA ENFERMEDAD DE PARKINSON

La AS ejerce su toxicidad a través de varios mecanismos:⁽²²⁾

-Inhibición lisosomal.⁽²²⁾

-Inhibición de la actividad del proteasoma.⁽²²⁾

-Inducción de estrés oxidativo: Genera especies reactivas de oxígeno (ROS) promoviendo el daño neuronal y mitocondrial.⁽²²⁾

-Dishomeostasis del Ca^{2+} .⁽²²⁾

-Disfunción mitocondrial: Induce la pérdida de neuronas dopaminérgicas y la producción de ROS. ⁽¹²⁾

-Interacción con hierro: El hierro libre es muy reactivo y la acumulación de él se puede observar en pacientes con EP. Estudios han demostrado que AS y hierro están relacionados entre sí en la EP y juntos provocan toxicidad en las neuronas dopaminérgicas. ⁽²³⁾

-Unión con colesterol: AS se une al colesterol de las membranas plasmáticas interrumpiéndolas y posteriormente provocando la muerte celular. Por lo tanto, el colesterol modula la agregación de AS y con ello provoca toxicidad celular. ⁽¹⁾

La AS participa en la patogenia de la EP ya que produce toxicidad en las células. La presencia de AS en LB en cerebros de pacientes post mortem con EP nos deja más claro que la AS está implicada en esta enfermedad. En estudios realizados con ratones transgénicos la AS se desarrolla neurodegeneración en diferentes partes del cuerpo de estos ratones como por ejemplo, en la médula espinal, produce déficits motores etc. ⁽¹⁶⁾

En otro estudio realizado con primates, se inyectó AS en el estriado de títí, provocando síntomas característicos como pérdida de neuronas dopaminérgicas. Este estudio no solo demostró que la AS es tóxica, si no también la internalización y el transporte por axones de sentido retrógrado. ⁽¹⁶⁾

Por otra parte, en otro estudio se observó que la AS que procedía de los cuerpos de Lewy de personas con EP post mortem, era inyectada a monos o ratones provocando igualmente degeneración de las neuronas dopaminérgicas después de que la AS fuese internalizada, se concluyó que este proceso dependía de la presencia de AS endógena. ⁽¹⁶⁾

Por lo tanto, hay una gran evidencia de estudios basados en animales que demuestran la toxicidad de AS, reforzando así la idea de que es un mediador clave en la EP.

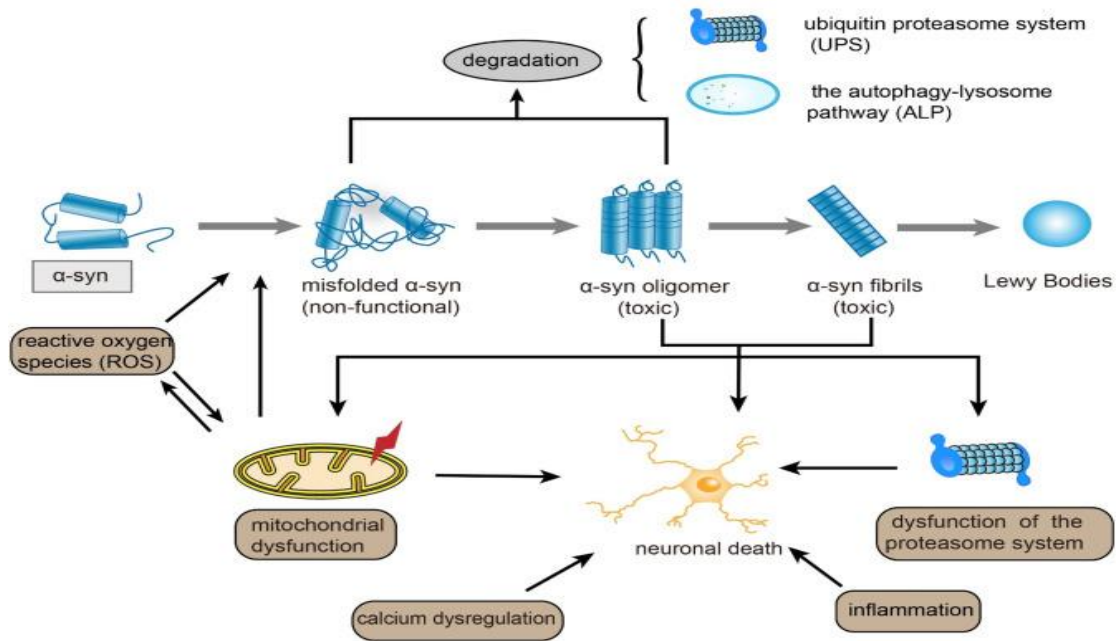


Figura 7. Esta imagen muestra un resumen de los pasos que conducen a la EP. Primeramente, AS se pliega de forma errónea, la participación de ROS favorecerá a que se formen especies tóxicas de AS que junto con la desregulación del calcio, la inflamación y la disfunción mitocondrial, la AS tóxica provoca la muerte neuronal y la patología de la EP. ⁽²⁴⁾

6.6. TRATAMIENTO DIRIGIDO A AS

Las principales opciones que hay para tratar la EP son tratamiento farmacológico y cirugía. El tratamiento farmacológico es prácticamente paliativo, por lo que cada vez es más necesario la búsqueda de nuevos tratamientos. El objetivo es desarrollar nuevos tratamientos dirigidos a la interacción, expresión, degradación y oligomerización de la AS:

-Se ha demostrado que los quelantes del hierro disminuyen tanto la oligomerización y expresión de la AS como la generación de ROS previniendo así la neurodegeneración. ⁽¹⁶⁾

-Por otra parte, la implicación de las chaperonas en la agregación y acumulación de AS las convierte en otra diana terapéutica. Los compuestos de ansaminacina

(geldanamicina, tanespimicina y alvespimicina) tienen actividad microbiana y son inhibidores de la chaperona Hsp90 disminuyendo así la toxicidad producida por la AS y promoviendo su eliminación. Resulta contradictorio que los inhibidores de Hsp90 reducen la toxicidad de AS ya que Hsp90 inhibe la agregación de AS. Esto se debe a que la inhibición de Hsp90 hace que se libere HSF1 y provoque una mayor expresión de otras chaperonas y de HSp70. ⁽¹⁶⁾

-Debida a la asociación entre glucocerebrosidasa y AS, estudios se han enfocado en encontrar soluciones terapéuticas para la EP utilizándola como diana. En estudios realizados con ratones, se ha visto que el mucolítico ambroxol aumenta la actividad de la glucocerebrosidasa y disminuye la AS. ^(16,25)

-Se ha demostrado en estudios con ratones transgénicos que el nilotinib (inhibidor de la tirosina quinasa) aumenta la eliminación de AS y previene la neurodegeneración provocada por ésta. ⁽¹⁶⁾

-El neuroléptico trifluoperazina evita la muerte de las células dopaminérgicas posmitóticas debida a la sobreexpresión de AS. ⁽¹⁶⁾

-Como se ha comentado anteriormente, la AS interacciona con las mitocondrias provocando disfunción mitocondrial. Estudios indican que la ciclosporina A podría proteger a las mitocondrias de la toxicidad de AS. ⁽¹⁶⁾

- La AS y TPPP/p25 (proteína promotora de la polimerización de tubulina) son dianas en el punto de mira. En pacientes sanos se encuentran en las neuronas y oligodendrocitos, respectivamente. Sin embargo, en pacientes con EP se hallan ubicados en ambos sitios trazando así la patogenia de la enfermedad. TPPP/p25 interactúa con AS promoviendo la oligomerización de ésta. Por lo tanto, el complejo AS-TPPP/p25 son dianas para una intervención farmacológica. ⁽²⁶⁾

-Inmunización para AS: Se trata de inmunización con anticuerpos monoclonales de oligómero anti-AS. Un ejemplo es cinpanemab que se une a la forma oligomérica de la AS, mostró eficacia en la fase 1 pero se detuvo el estudio en la fase 2. Otro ejemplo es el prasinezumab que se dirige a los agregados de AS,

actualmente se encuentra en fase 2. Por último, como vacuna para la AS, PD01A ha demostrado ser segura en pacientes con EP. ⁽²⁷⁾

- Inhibidor del plegamiento incorrecto de la AS: En estudios realizados con ratones transgénicos plasmaron que NPT200-11 inhibe el plegamiento incorrecto de AS y su acumulación. Por lo tanto, NPT200-11 es capaz de reducir la patología asociada a la AS. ⁽²⁷⁾

-Estudios realizados con roedores proporcionaron que la deficiencia o mutación del gen VPS35 provoca acumulación y agregación de AS en el sistema nervioso, afectando así a las neuronas dopaminérgicas, reducción de la dopamina, síntomas locomotores y alteración lisosomal. Por el contrario, un exceso de VPS35 disminuye la acumulación de AS y proporciona neuroprotección. Por lo tanto, VPS35 podría ser una buena diana terapéutica para la enfermedad de Parkinson. ⁽²⁸⁾

-Diferentes fármacos botánicos ayudan a tratar la EP ejerciendo efectos sobre la AS entre otros. El resveratrol previene la disfunción mitocondrial, estimula la degradación de AS y disminuye la expresión de ésta. Fenoles como la berberina disminuye los niveles de AS. Por otro lado, un estudio realizado con ratones administrándoles MPTP se observó que con flavonoides como la baicaleína se reducía la agregación de AS y protegía la plasticidad sináptica. ⁽¹²⁾

-La epigallocatequina 3-galato (EGCG) derivado del té verde ha demostrado tener efectos beneficiosos sobre la EP debido a que actúa como antioxidante y neuroprotector ya que interviene en la producción de ROS (disminuye) y agregación de AS (disminuye). Por lo tanto, este compuesto es un candidato como terapia para la EP. ⁽²⁹⁾

7. DISCUSIÓN

La EP se ha convertido en un problema a nivel mundial ya que es uno de los trastornos neurodegenerativos que más prevalencia tienen hoy en día. Actualmente, la EP afecta al 1%-2% (+60 años), aumentando al 4% en personas con 80 años. ⁽²⁾

La causa de la enfermedad se desconoce en algunos pacientes. Los factores de riesgo que participan en la EP son la edad, factores ambientales, causas genéticas (mutaciones de genes) entre otros.

Actualmente, la enfermedad es tratada con fármacos paliativos que retrasan la enfermedad, pero no la erradican. Numerosos estudios trabajan para encontrar una solución a nivel terapéutico. Tras años de investigación, se ha visto que la AS participa en el transcurso de esta enfermedad. Esta proteína compone los cuerpos de Lewy que aparecen tras la pérdida de las neuronas dopaminérgicas en pacientes con EP. Debido a numerosos estudios, se conocen algunos aspectos de la AS como su estructura, pero todos los mecanismos moleculares que tiene para producir toxicidad en la EP todavía se desconocen. Se sabe que un mal plegamiento de AS y su posterior agregación en forma de oligómeros y fibrillas causan toxicidad en la EP, pero en la mayoría de los casos se desconoce el origen y las causas de este mal plegamiento.

Hay evidencias de que la AS se propaga de forma similar a un prion, es decir, de célula a célula produciendo neurotoxicidad. Conocer los mecanismos de propagación, endocitosis y exocitosis de ésta podría proporcionar nuevos conocimientos para tratar la EP. Por lo tanto, una terapéutica dirigida a AS sería el próximo objetivo para poder tratar la enfermedad a tiempo y que los síntomas no avancen.

La enfermedad de Parkinson es demasiado compleja, por lo que no se puede atribuir como única causante a la AS, si no que intervienen demasiados factores en esta enfermedad que fluyen de forma sinérgica y se retroalimentan unos a

otros. Sin embargo, conocer con más profundidad todos los aspectos de AS sería un motivo esperanzador para los pacientes que padecen EP.

8. CONCLUSIONES

-Los pacientes con enfermedad de Parkinson presentan cuerpos de Lewy que están compuestos por AS debido a la pérdida de neuronas dopaminérgicas.

-La AS está involucrada en la patología de la enfermedad de Parkinson produciendo neurotoxicidad.

-La AS provoca toxicidad por varios mecanismos: formación de oligómeros y agregación de la misma, alteración mitocondrial, estrés oxidativo, inhibición lisosomal, entre otros.

-La AS se propaga de forma similar a un prion, es decir, de célula en célula. Esta propagación afecta de forma directa a la enfermedad ya que participa en su evolución y progresión.

-Una terapia dirigida a AS podría retrasar la progresión de la enfermedad. Por ejemplo, fármacos que inhiban el plegamiento incorrecto de la AS como NPT200-11, fármacos que favorezcan la eliminación de ésta como los compuestos de ansaminacina o fitoquímicos que proporcionen propiedades antioxidantes para eliminar ROS.

Para ello, se necesitan más estudios para poder diseñar una terapéutica específica y eficaz.

-Potenciar la investigación en lo relativo a la AS es una vía necesaria y prometedora para combatir la enfermedad de Parkinson.

9. BIBLIOGRAFÍA

1. García-Sanz P, M F G Aerts J, Moratalla R. The Role of Cholesterol in α -Synuclein and Lewy Body Pathology in GBA1 Parkinson's Disease. *Mov Disord.* 2021 May;36(5):1070-1085. doi: 10.1002/mds.28396. Epub 2020 Nov 21. PMID:33219714; PMCID: PMC8247417.
2. Gómez-Benito M, Granado N, García-Sanz P, Michel A, Dumoulin M, Moratalla R. Modeling Parkinson's Disease With the Alpha-Synuclein Protein. *Front Pharmacol.* 2020 Apr 23;11:356. doi: 10.3389/fphar.2020.00356. PMID: 32390826; PMCID:PMC7191035.
3. Indrieri A, Pizzarelli R, Franco B, De Leonibus E. Dopamine, Alpha-Synuclein, and Mitochondrial Dysfunctions in Parkinsonian Eyes. *Front Neurosci.* 2020 Oct 19;14:567129. doi: 10.3389/fnins.2020.567129. PMID: 33192254; PMCID:PMC7604532.
4. Panicker N, Ge P, Dawson VL, Dawson TM. The cell biology of Parkinson's disease. *J Cell Biol.* 2021 Apr 5;220(4):e202012095. doi: 10.1083/jcb.202012095. PMID: 33749710; PMCID: PMC8103423.
5. Angelopoulou E, Paudel YN, Villa C, Shaikh MF, Piperi C. Lymphocyte-Activation Gene 3 (LAG3) Protein as a Possible Therapeutic Target for Parkinson's Disease: Molecular Mechanisms Connecting Neuroinflammation to α -Synuclein Spreading Pathology. *Biology (Basel).* 2020 Apr 23;9(4):86. doi: 10.3390/biology9040086. PMID: 32340360; PMCID: PMC7235703.
6. Brás IC, Outeiro TF. Alpha-Synuclein: Mechanisms of Release and Pathology Progression in Synucleinopathies. *Cells.* 2021 Feb 12;10(2):375. doi:10.3390/cells10020375. PMID: 33673034; PMCID: PMC7917664.
7. Granek Z, Barczuk J, Siwecka N, Rozpędek-Kamińska W, Kucharska E, Majsterek I. *GBA1* Gene Mutations in α -Synucleinopathies-Molecular Mechanisms Underlying Pathology and Their Clinical Significance. *Int J Mol Sci.* 2023 Jan 20;24(3):2044. doi: 10.3390/ijms24032044. PMID: 36768367; PMCID: PMC9917178.

8. Ioghen OC, Ceafalan LC, Popescu BO. SH-SY5Y Cell Line *In Vitro* Models for Parkinson Disease Research-Old Practice for New Trends. *J Integr Neurosci*. 2023 Jan 16;22(1):20. doi:10.31083/j.jin2201020. PMID: 36722247.
9. Mor DE, Daniels MJ, Ischiropoulos H. The usual suspects, dopamine and alpha-synuclein, conspire to cause neurodegeneration. *Mov Disord*. 2019Feb;34(2):167-179. doi: 10.1002/mds.27607. Epub 2019 Jan 11. PMID: 30633814;PMCID: PMC6379109.
10. Obergasteiger J, Frapporti G, Pramstaller PP, Hicks AA, Volta M. A new hypothesis for Parkinson's disease pathogenesis: GTPase-p38 MAPK signaling and autophagy as convergence points of etiology and genomics. *Mol Neurodegener*. 2018 Aug 2;13(1):40. doi: 10.1186/s13024-018-0273-5. PMID: 30071902; PMCID:PMC6090926.
11. Tan YY, Jenner P, Chen SD. Monoamine Oxidase-B Inhibitors for the Treatment of Parkinson's Disease: Past, Present, and Future. *J Parkinsons Dis*.2022;12(2):477-493. doi: 10.3233/JPD-212976. PMID: 34957948; PMCID: PMC8925102.
12. Dong-Chen X, Yong C, Yang X, Chen-Yu S, Li-Hua P. Signaling pathways in Parkinson's disease: molecular mechanisms and therapeutic interventions. *Signal Transduct Target Ther*. 2023 Feb 21;8(1):73. doi: 10.1038/s41392-023-01353-3.PMID: 36810524; PMCID: PMC9944326.
13. Sanchez Alonso P, De La Casa-Fages B, Alonso-Cánovas A, Martínez-CastrilloJC. Switching from Rasagiline to Saffinamide as an Add-On Therapy Regimen inPatients with Levodopa: A Literature Review. *Brain Sci*. 2023 Feb 7;13(2):276.doi: 10.3390/brainsci13020276. PMID: 36831820; PMCID: PMC9954438.
14. Di Luca DG, Reyes NGD, Fox SH. Newly Approved and Investigational Drugs for Motor Symptom Control in Parkinson's Disease. *Drugs*. 2022 Jul;82(10):1027-1053. doi: 10.1007/s40265-022-01747-7. Epub 2022 Jul 16. PMID: 35841520; PMCID: PMC9287529.

15. Fan TS, Liu SC, Wu RM. Alpha-synuclein and cognitive impairment in Parkinson's disease. *Life (Basel)*. 2021 November 16;11(11):1239. DOI: 10.3390/LIFE11111239. PMID: 34833115; PMCID: PMC8625417.
16. Ganguly U, Chakrabarti SS, Kaur U, Mukherjee A, Chakrabarti S. Alpha synuclein, Proteotoxicity and Parkinson's Disease: Search for Neuroprotective Therapy. *Curr Neuropharmacol*. 2018;16(7):1086-1097. doi:10.2174/1570159X15666171129100944. PMID: 29189163; PMCID: PMC6120113.
17. Burré J, Sharma M, Südhof TC. Cell Biology and Pathophysiology of α -Synuclein. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2018 Mar 1;8(3):a024091. doi: 10.1101/cshperspect.a024091. PMID: 28108534; PMCID: PMC5519445.
18. Marvian AT, Koss DJ, Aliakbari F, Morshedi D, Outeiro TF. In vitro models of synucleinopathies: informing on molecular mechanisms and protective strategies. *J Neurochem*. 2019 Sep;150(5):535-565. doi: 10.1111/jnc.14707. Epub 2019 May 15. PMID: 31004503.
19. Gracia P, Camino JD, Volpicelli-Daley L, Cremades N. Multiplicity of α -Synuclein Aggregated Species and Their Possible Roles in Disease. *Int J MolSci*. 2020 Oct 28;21(21):8043. doi: 10.3390/ijms21218043. PMID: 33126694; PMCID:PMC7663424.
20. Choi YR, Park SJ, Park SM. Molecular events underlying the cell-to-cell transmission of α -synuclein. *FEBS J*. 2021 Dec;288(23):6593-6602. doi:10.1111/febs.15674. Epub 2020 Dec 29. PMID: 33332736.
21. Bieri G, Gitler AD, Brahic M. Internalization, axonal transport and release of fibrillar forms of alpha-synuclein. *Neurobiol Dis*. 2018 Jan;109(Pt B):219-225. doi: 10.1016/j.nbd.2017.03.007. Epub 2017 Mar 16. PMID: 28323023; PMCID: PMC5600643.
22. Steiner JA, Quansah E, Brundin P. The concept of alpha-synuclein as a prion-like protein: ten years after. *Cell Tissue Res*. 2018 Jul;373(1):161-173. doi:10.1007/s00441-018-2814-1. Epub 2018 Feb 26. PMID: 29480459; PMCID: PMC6541204.

23. Wise RM, Wagener A, Fietzek UM, Klopstock T, Mosharov EV, Zucca FA, Sulzer D, Zecca L, Burbulla LF. Interactions of dopamine, iron, and alpha-synuclein linked to dopaminergic neuron vulnerability in Parkinson's disease and Neurodegeneration with Brain Iron Accumulation disorders. *Neurobiol Dis.* 2022 Dec;175:105920. doi: 10.1016/j.nbd.2022.105920. Epub 2022 Nov 7. PMID: 36351559.
24. Hu S, Tan J, Qin L, Lv L, Yan W, Zhang H, Tang B, Wang C. Molecular chaperones and Parkinson's disease. *Neurobiol Dis.* 2021 Dec;160:105527. doi: 10.1016/j.nbd.2021.105527. Epub 2021 Oct 7. PMID: 34626793.
25. Chen Y, Sam R, Sharma P, Chen L, Do J, Sidransky E. Glucocerebrosidase as a therapeutic target for Parkinson's disease. *Expert Opin Ther Targets.* 2020 Apr;24(4):287-294. doi: 10.1080/14728222.2020.1733970. Epub 2020 Feb 27. PMID: 32106725; PMCID: PMC7113099.
26. Oláh J, Ovádi J. Pharmacological targeting of α -synuclein and TPPP/p25 in Parkinson's disease: challenges and opportunities in a nutshell. *FEBS Lett.* 2019 Jul;593(13):1641-1653. doi: 10.1002/1873-3468.13464. Epub 2019 Jun 11. PMID: 31148150.
27. Murakami H, Shiraishi T, Umehara T, Omoto S, Iguchi Y. Recent Advances in Drug Therapy for Parkinson's Disease. *Intern Med.* 2023 Jan 1;62(1):33-42. doi: 10.2169/internalmedicine.8940-21. Epub 2022 Feb 1. PMID: 35110492; PMCID: PMC9876715.
28. Eleuteri S, Albanese A. VPS35-Based Approach: A Potential Innovative Treatment in Parkinson's Disease. *Front Neurol.* 2019 Dec 17;10:1272. doi: 10.3389/fneur.2019.01272. PMID: 31920908; PMCID: PMC6928206.
29. Wang Y, Wu S, Li Q, Lang W, Li W, Jiang X, Wan Z, Chen J, Wang H. Epigallocatechin-3-gallate: A phytochemical as a promising drug candidate for the treatment of Parkinson's disease. *Front Pharmacol.* 2022 Sep 12;13:977521. doi: 10.3389/fphar.2022.977521. PMID: 36172194; PMCID: PMC9511047.