



**FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

**TRABAJO FIN DE GRADO
LA α -SINUCLEÍNA COMO DIANA
EN EL DISEÑO DE FÁRMACOS**

Autor: Sara Prieto Román

Fecha: Julio 2020

Tutor: Jose Carlos Menéndez Ramos

ÍNDICE

1. RESUMEN.....	3
2. INTRODUCCIÓN	4
3. OBJETIVOS.....	5
4. METODOLOGÍA	5
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	6
5.1. Alfa-sinucleína (AS). Estructura y función fisiológica.....	6
5.2. Conformaciones y agregación proteica	7
5.3. Propagación de alfa-sinucleína según la teoría “prion-like”	8
5.4. Neurotoxicidad de la alfa-sinucleína.....	10
5.5. Estrategias terapéuticas y fármacos dirigidos	12
Reducción de la expresión génica	12
Inhibición de la agregación	13
Bloqueo de la propagación.....	15
Incremento de la degradación	16
5.6. Inmunoterapia.....	17
6. CONCLUSIONES	18
7. BIBLIOGRAFÍA.....	18

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

- EP, enfermedad de Parkinson.
- DCL, demencia por cuerpos de Lewy.
- AMS, Atrofia Multisistémica.
- AS, alfa-sinucleína.
- CL, cuerpos de Lewy.
- NL, neuritas de Lewy.
- SNC, sistema nervioso central.
- UPS, ubiquitina-proteasoma.
- CSP, proteína de cadena de cisteína.
- DA, dopamina.
- LCR, líquido cefalorraquídeo.
- RE, retículo endoplasmático.
- AG, aparato de Golgi.
- GSH, glutation.
- TK-Abl, tirosina quinasa de Abelson.
- β -GCasa, β -glucocerebrosidasa.

1. RESUMEN

Las enfermedades neurodegenerativas son un grupo de procesos patológicos crónicos para los que sólo existe un tratamiento sintomático y entre los que se encuentran las alfa-sinucleinopatías, que incluyen la enfermedad de Parkinson (EP), la demencia por cuerpos de Lewy (DCL) y la atrofia multisistémica (AMS). Estas enfermedades se caracterizan por el depósito anormal de alfa-sinucleína, una proteína de localización neuronal cuya función fisiológica está especialmente relacionada con la homeostasis sináptica. La alfa-sinucleína nativa se encuentra en equilibrio entre una forma monomérica y un estado unido a membranas. Sin embargo, diversos factores como las modificaciones postraduccionales o el estrés oxidativo, entre otros, alteran el equilibrio al inducir el mal plegamiento de la proteína. En consecuencia, se forman especies tóxicas que se agregan hasta constituir inclusiones citoplasmáticas neuronales (cuerpos o neuritas de Lewy) o gliales. Los agregados formados producen toxicidad celular a distintos niveles y además, pueden propagarse entre células mediante procesos de secreción y absorción, lo que incrementa dicha toxicidad. Por último, atendiendo a la patogénesis molecular de la AS, se proponen varias estrategias terapéuticas que tienen como objetivo común disminuir el daño celular producido, y enfocar así el tratamiento de las alfa-sinucleinopatías hacia su origen natural.

Palabras clave: “alfa-sinucleína”, “alfa-sinucleinopatías”, “agregación de alfa-sinucleína”, “propagación de alfa-sinucleína”, “toxicidad de alfa-sinucleína”, “alfa-sinucleína como diana terapéutica”.

ABSTRACT

Neurodegenerative diseases are a group of chronic diseases that include Parkinson's Disease (PD), Lewy Body Dementia (LBD) and Multiple System Atrophy (MSA) commonly known as alpha synucleinopathies, and for which there is only symptomatic treatment. These maladies are characterized by the abnormal deposit of alpha-synuclein, a neuronally located protein whose physiological function is related to synaptic homeostasis. For native alpha synuclein, an equilibrium exists between a monomeric form and a membrane-bound state. However, various factors such as post-translational modifications or oxidative stress, among others, alter the balance by inducing protein folding. Consequently, toxic species are formed and aggregated to constitute neuronal cytoplasmic inclusions (Lewy bodies or Lewy neurites) or glial cells. The aggregates thus formed produce cellular toxicity at different levels and, furthermore, they can spread between cells through secretion and absorption processes, which increases the toxic response. Finally, taking into account the molecular pathogenesis of AS, several therapeutic strategies are proposed with the common objective of reducing the cellular damage produced, and thus focus the treatment of alpha-synucleinopathies towards their natural origin.

Key words: "alpha-synuclein", "alpha-synucleinopathies", "alpha-synuclein aggregation", "alpha-synuclein spread", "alpha-synuclein toxicity", "alpha-synuclein as a therapeutic target".

2. INTRODUCCIÓN

Las **enfermedades neurodegenerativas** son un grupo de enfermedades crónicas caracterizadas por una pérdida neuronal progresiva que deriva en alteraciones a nivel del sistema cognitivo, sensitivo y motor (1). Asimismo, se definen también por la formación de depósitos de proteínas intrínsecas y específicas junto con otros componentes celulares, que aparecen incluso antes de las primeras manifestaciones clínicas (2). Estos agregados pueden ser intracelulares en neuronas o células gliales originando estructuras distintivas como los ovillos neurofibrilares o los cuerpos o neuritas de Lewy o bien, extracelulares formando “placas” tales como las placas neuríticas representativas de la enfermedad de Alzheimer (EA) (3). Los trastornos neurodegenerativos más comunes son proteinopatías entre las cuales se distinguen amiloidosis, tauopatías, alfa-sinucleinopatías y TDP-43 proteinopatías (2).

Las alfa-sinucleinopatías se definen como el conjunto de enfermedades neurodegenerativas que tienen como base neuropatológica el depósito anormal de la proteína alfa-sinucleína en el citoplasma o en neuritas de neuronas o de células gliales. La enfermedad de Parkinson (EP), la demencia por cuerpos de Lewy (DCL) y la atrofia multisistémica (AMS) son las patologías que se engloban dentro de este grupo (4).

La **enfermedad de Parkinson (EP)** es un proceso neurodegenerativo, considerado la segunda enfermedad neurodegenerativa más frecuente después de la enfermedad de Alzheimer. De etiología desconocida, fue descrita en 1817 por el médico británico James Parkinson en su monografía “*An essay on the shacking palsy*” en la cual se integraron por primera vez en un único trastorno manifestaciones que hasta entonces se habían considerado como entidades diferentes. La prevalencia de esta enfermedad se estima en 0,3% en la población general y aproximadamente el 1% en mayores de 60 años, siendo la edad avanzada el principal factor de riesgo (5).

Se caracteriza por el deterioro progresivo de neuronas dopaminérgicas de la *Substantia Nigra pars compacta (SNpc)*, así como por la presencia de inclusiones intracitoplasmáticas neuronales de alfa-sinucleína anormalmente plegada, conocidas como cuerpos de Lewy (CL). Como consecuencia de la neurodegeneración, hay una denervación de neuronas dopaminérgicas de la SNpc hacia el núcleo estriado. Este hecho condiciona la neurotransmisión a nivel de los ganglios basales, lo que desencadena las principales manifestaciones de la enfermedad (5).

En cuanto a la clínica, la EP se identifica con síntomas motores entre los que destacan bradicinesia, temblor en reposo, rigidez e inestabilidad postural. Asimismo, también se reconocen síntomas no motores como alteraciones del olfato, afectaciones en el centro del sueño, constipación y depresión, que pueden aparecer incluso antes que los síntomas motores (6). A medida que la enfermedad avanza, es común el desarrollo de demencia, que aparece en el 83% de los pacientes tras 20 años desde el inicio de la enfermedad. El diagnóstico atiende a las manifestaciones clínicas descritas previamente (5).

La segunda alfa-sinucleinopatía más común es la **demencia por cuerpos de Lewy (DCL)**. Se trata de una enfermedad neurodegenerativa de causa desconocida, que constituye la segunda causa de demencia en personas de edad avanzada, tras la enfermedad de Alzheimer y en torno al 10-25% de todas las demencias en la población general (7).

Su base anatomopatológica son los cuerpos de Lewy (CL) y las neuritas de Lewy (NL), siendo la alfa-sinucleína el componente principal de ambas formaciones. En la DCL también pueden encontrarse placas amiloides y ovillos neurofibrilares lo que hace difícil el diagnóstico diferencial entre la DCL y la EA. Desde el punto de vista neuroquímico, se caracteriza por una alta disfunción colinérgica junto con una disminución de la actividad dopaminérgica en el núcleo estriado (7).

La clínica de este tipo de demencia suele evolucionar de forma fluctuante y rápida. Los pacientes presentan rasgos parkinsonianos, alucinaciones visuales y fluctuaciones del nivel de conciencia y de la atención que ocurren de manera esporádica. Aunque hay criterios diagnósticos para identificar esta patología como posible o probable, el diagnóstico de confirmación es siempre *post mortem* (7).

El término de **Atrofia Multisistémica (AMS)** fue introducido en 1969 por Graham y Oppenheimer con el fin de incluir varias entidades patológicas en una sola. La AMS es una enfermedad neurodegenerativa de inicio en la edad adulta, esporádica y que cursa de forma progresiva (8).

Patológicamente se distingue por la presencia de inclusiones intracitoplasmáticas gliales. Estas inclusiones son positivas a inmunotinción para alfa-sinucleína, lo que permite clasificar a esta enfermedad dentro de las alfa-sinucleinopatías. Los pacientes con AMS presentan una combinación de síntomas disautonómicos, cerebelosos, parkinsonianos y corticoespinales. Podemos hablar de dos subtipos de la enfermedad, AMS-P y AMS-C, dependiendo de si los síntomas predominantes son parkinsonianos o cerebelosos respectivamente. El diagnóstico es fundamentalmente clínico (8).

Actualmente, no existe un tratamiento curativo para ninguna de las enfermedades neurodegenerativas descritas anteriormente. En todas ellas, el abordaje terapéutico es estrictamente sintomático, encaminado a mejorar la calidad de vida del paciente. Puesto que se trata de patologías de desarrollo progresivo, es necesario ajustar el tratamiento periódicamente en función de las necesidades clínicas, el momento evolutivo y la fase de la enfermedad en la que se encuentra cada paciente. Con el paso del tiempo, son cada vez más las investigaciones científicas destinadas a buscar alternativas terapéuticas que afronten el tratamiento de estas enfermedades desde su historial natural (5,7,8).

3. OBJETIVOS

La consideración de la alfa-sinucleína como diana dirige el tratamiento de estas enfermedades hacia su origen, lo que constituye una ventaja respecto a una terapéutica exclusivamente sintomática. Por consiguiente, el objetivo marcado será conocer su posible función fisiológica y mecanismos de toxicidad; aplicar dichos conocimientos en el desarrollo de las diferentes estrategias terapéuticas; y por último, abordar los distintos compuestos que sitúan a esta proteína como diana farmacológica.

4. METODOLOGÍA

Se trata de un trabajo de revisión bibliográfica para lo cual se ha procedido a la búsqueda en bases científicas como son: PubMed, ScienceDirect, Google Académico, ScieLO. Tomando como referencia publicaciones y artículos de menos de diez años de antigüedad, si bien hay alguno anterior, servirá como base y apoyo de los artículos publicados con posterioridad.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Alfa-sinucleína (AS). Estructura y función fisiológica

Fue en 1988 cuando Maroteaux et al. aislaron por primera vez alfa-sinucleína en el tejido neuronal de *Torpedo californica*, conocida como la raya eléctrica del Pacífico. La AS es una proteína integrada por 140 aminoácidos, tiene un peso molecular de 14,460 Da y un punto isoeléctrico de 4,67 con una carga neta negativa a pH neutro. Está codificada por el gen SNCA que se encuentra localizado en el brazo largo del cromosoma 4 en humanos. Pertenece a una familia de proteínas en la que se incluyen la alfa-sinucleína, beta-sinucleína y gamma-sinucleína. Únicamente AS y beta-sinucleína se expresan en el cerebro de mamíferos (9).

Su secuencia aminoacídica está estructurada en tres regiones (Figura 1): primero, el extremo amino, dominio de interacción con lípidos de membrana gracias a su carácter anfipático y estructura en alfa-hélice. En esta región aparece la secuencia KTKEGV, que se conserva a lo largo de toda la estructura proteica repitiéndose hasta 7 veces.

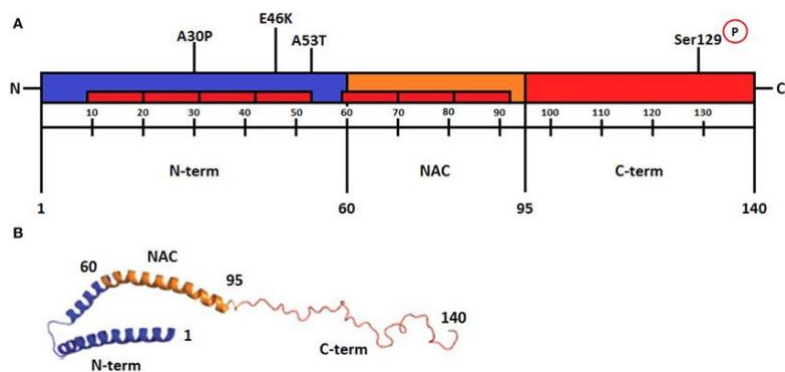


Figura 1. Estructura de la alfa-sinucleína (10)

En segundo lugar, el dominio hidrofóbico central conocido como NAC, del inglés *non-amyloid- β -component*, el cual tiende a agregarse formando oligómeros de AS o protofibrillas que finalmente generan fibras insolubles. Por último, el extremo carboxilo rico en residuos ácidos (10).

Se localiza principalmente en el sistema nervioso central (SNC), en particular, en el neocórtex, el hipocampo y la sustancia negra. Más concretamente, la AS se encuentra en las neuronas, y en su mayoría, en las terminales presinápticas. No obstante, también se ha identificado alfa-sinucleína en líquido cefalorraquídeo, espacio extracelular neuronal y sangre. Su presencia en estos fluidos se relaciona con la propagación de AS según la teoría *prion-like* que se explicará más adelante en el trabajo, y que podría estar implicada en la progresión de enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad de Parkinson (4,11).

A día de hoy, la función fisiológica de la alfa-sinucleína sigue siendo objeto de estudio. Se conocen algunos de los papeles que desempeña, pero su implicación fisiológica no está del todo clara. La localización presináptica y la capacidad de unión a fosfolípidos de membrana conduce a la idea de que fisiológicamente podría estar relacionada con la neurotransmisión, homeostasis, tráfico y exo-/endocitosis de vesículas, y función mitocondrial. Su sobreexpresión o la presencia de mutaciones se relacionan con una fragmentación de las mitocondrias, afectando a su fusión y funcionalidad (10).

La alfa-sinucleína se reorganiza en multímeros al unirse a los lípidos de membrana de las vesículas sinápticas y a la sinaptobrevina-2. Se ha visto, en estudios *in vitro*, que la multimerización influye en la actividad del complejo SNARE y favorece el agrupamiento de vesículas en las terminales sinápticas lo que interfiere en su fusión con la membrana plasmática.

Es probable que su participación en la neurotransmisión no se deba a una actuación directa sobre la maquinaria de liberación, sino a una regulación sobre el conjunto de vesículas dentro de la terminal sináptica (11). Así, la alfa-sinucleína se relaciona también con la inhibición de fosfolipasa D2: enzima que cataliza la hidrólisis de fosfatidilcolina a ácido fosfatídico y diacilglicerol, ambos moduladores intracelulares de la transmisión nerviosa (10).

Particularmente, se ha observado más de cerca su papel en la biosíntesis y transporte de dopamina (DA). En células que sobreexpresan la proteína se ha visto que ésta estabiliza la forma defosforilada o inactiva de la tirosina hidroxilasa (TH): enzima que cataliza el paso de tirosina a dopamina en la vía de biosíntesis. Asimismo, modula los niveles y actividad del VMAT2: transportador que secuestra la DA del citosol y la conduce hacia las vesículas. La eliminación de AS incrementa la densidad de las moléculas de VMAT2 por vesícula, sin embargo, su sobreexpresión inhibe la actividad del transportador. Estas observaciones relacionan a la AS con la homeostasis dopaminérgica (12).

Análogamente, se ha visto que la alfa-sinucleína *in vivo* es capaz de compensar la pérdida de proteína de cadena de cisteína (CSP), una chaperona presináptica (12). En estudios con ratones se ha comprobado que la eliminación de CSP afecta al plegamiento del complejo SNARE y, produce una degeneración progresiva en la sinapsis resultando en un fenotipo letal (13). La supresión de alfa y beta sinucleína agravó dicho fenotipo, mientras que la sobreexpresión de alfa-sinucleína en estos ratones postergó la degeneración producida. Este hecho llevó a pensar que la alfa-sinucleína podía tener una función como chaperona. No obstante, el mecanismo de acción no está claro; pero podría estar relacionado con la capacidad de unión de fosfolípidos ya que se observó que la proteína mutada A30P, con capacidad de unión a lípidos muy débil, no compensaba la neurodegeneración ocasionada por la pérdida de CSP (13).

5.2. Conformaciones y agregación proteica

La alfa-sinucleína puede presentarse en diversas conformaciones que evolucionan de conformaciones nativas (monómeros y tetrámeros) a conformaciones tóxicas (oligómeros y fibrillas) (14). Esta evolución conformacional conduce a la agregación proteica en el citoplasma celular en forma de CL, NL e inclusiones intracitoplasmáticas gliales (10). La proteína monomérica se encuentra en equilibrio entre un estado soluble intrínsecamente desordenado y un estado unido a membranas con el que adquiere una estructura secundaria en alfa-hélice (11). Con el tiempo, se observó que la AS endógena también puede aparecer formando un tetrámero plegado estable que, a diferencia de los monómeros, demostró *in vitro* poca o ninguna tendencia a la agregación (14).

La conformación monomérica es lábil ya que sus extremos amino y carboxilo, ricos en residuos cargados, son susceptibles de sufrir modificaciones postraduccionales (acetilación, fosforilación, oxidación, nitración, ubiquitinación, etc.) que juegan un papel determinante en la regulación de la función y conformación de la proteína (13, 14). De manera específica, la fosforilación de AS en el residuo de serina 129 facilita la formación de agregados (4). Asimismo, factores ambientales como el pH ácido, el estrés oxidativo y metales como el hierro junto a las mutaciones genéticas, las duplicaciones o triplicaciones del gen SNCA, los aductos de DA y la interacción con las proteínas tau y beta-amiloide, favorecen la agregación proteica (14, 15).

Se ha visto también que un defecto de la degradación puede ayudar a la agregación, concretamente la AS se degrada por el sistema ubiquitina-proteasoma (UPS) y por la vía de la autofagia-lisosomal. Estudios *in vivo* revelaron que la proteína soluble en forma de monómero se degrada mayoritariamente por la UPS; sin embargo, las conformaciones más complejas como los agregados se degradan por la vía de la autofagia-lisosomal. Así, se ha asociado un fallo de autofagia mediada por chaperonas con la EP (4,16).

La agregación de alfa-sinucleína es dependiente de 12 aminoácidos (71-82) que forman parte del dominio hidrofóbico central (NAC). A continuación, se mencionan las distintas fases del proceso de agregación durante el cual la proteína nativa pierde su funcionalidad y gana toxicidad (Figura 2) (4,10):

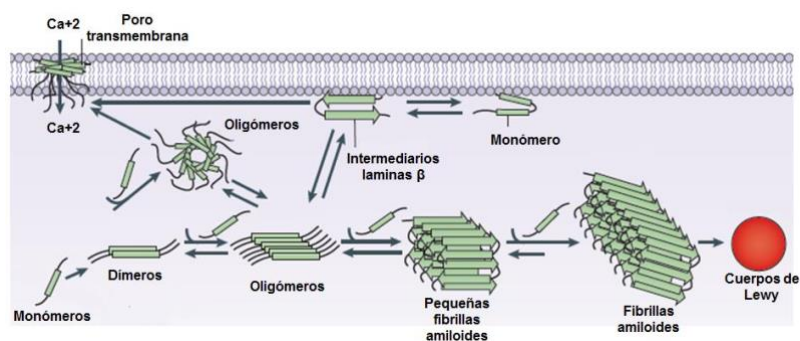


Figura 2. Esquema del proceso de agregación de AS (17)

- ✓ Los monómeros se dimerizan o adoptan una estructura secundaria en lámina beta.
- ✓ Los dímeros se asocian con otros dímeros o monómeros, lo que origina los oligómeros de AS.
- ✓ Los oligómeros se agregan entre sí y se forman las fibras amiloides (insolubles).
- ✓ Las fibras se agregan constituyendo los cuerpos de Lewy (CL), las neuritas de Lewy (NL) o inclusiones citoplasmáticas gliales, dependiendo de cuál sea la localización de estos agregados.

Los cuerpos de Lewy se presentan como masas esféricas que desplazan al resto de componentes del citoplasma. Su componente mayoritario es la alfa-sinucleína; no obstante, también pueden encontrarse otras proteínas como la ubiquitina y la parkina, y neurofilamentos. Se distinguen dos formas de CL: clásica y cortical. La forma clásica es una inclusión eosinofílica con un centro denso del que nacen fibrillas ricas en AS, en cambio, la forma cortical no cuenta con el halo fibrilar y posee una densidad mayor. En su interior, la agregación de AS puede ser covalente o no covalente. En la agregación no covalente, se distinguen fibrillas de AS como bastones que se asemejan a las radiaciones de los CL. Por otro lado, la agregación covalente se caracteriza por la presencia de enlaces cruzados principalmente entre los residuos de tirosina de las moléculas de AS, y se asocia con la presencia de hierro y el estrés oxidativo. Este último engloba tanto el estrés oxidativo de tipo peroxidativo como el de tipo nitrosativo y, ambos producen cambios en la proteína asociados a residuos de tirosina (Y) de su estructura, siendo los más afectados los resitudos Y125, Y133, Y139 e Y136. Las neuritas de Lewy e inclusiones intracitoplasmáticas gliales son también formaciones proteicas ricas en AS, las primeras se forman en las terminales axónicas y dendritas neuronales, mientras que las segundas, como su propio nombre indica, se forman en las células de la glía (4).

5.3. Propagación de alfa-sinucleína según la teoría “prion-like”

En la patogenia de muchas de las enfermedades neurodegenerativas están implicadas proteínas como la alfa-sinucleína que, además de agregarse, pueden propagarse de célula a célula del mismo modo que los priones. Estas proteínas se conocen como “prionoides” o “prion-like” (10).

Propagación del huésped al trasplante neuronal

Se han trasplantado neuronas embrionarias del mesencéfalo en el núcleo estriatal de pacientes enfermos de Parkinson y se ha comprobado que, con los años, en las neuronas trasplantadas pueden desarrollarse CL. No hay datos concluyentes sobre cómo la AS se propaga de las neuronas trasplantadas sanas a las neuronas dañadas pero existen dos hipótesis que podrían explicarlo: la primera, expone que las neuronas, al ser trasplantadas, se someten a unas condiciones desfavorables como el estrés oxidativo, la inflamación o la excitotoxicidad que favorecen la alteración de sus proteínas, incluida la AS; la segunda teoría recoge la idea de que la AS se transmite, en forma de oligómeros, de la neurona del enfermo de Parkinson hasta la neurona sana trasplantada, y una vez allí, promueve la agregación de la AS endógena hasta formar los CL (10).

Propagación intercelular (Figura 3)

- **Secreción de alfa-sinucleína**

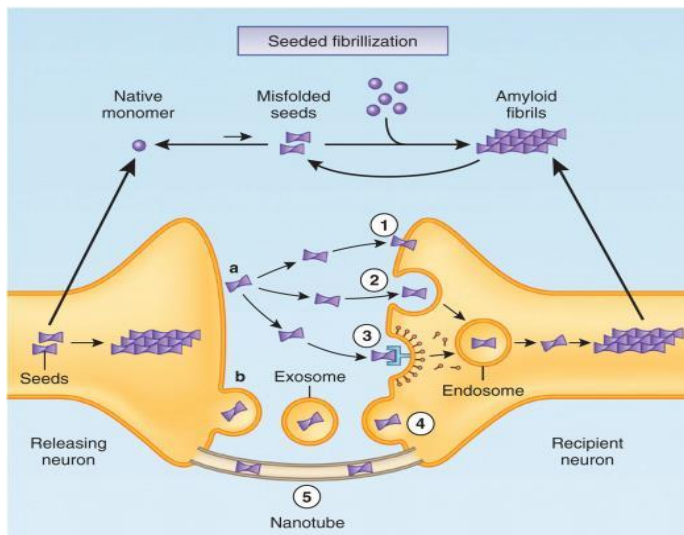


Figura 3. Mecanismo de propagación intercelular de AS (10)

Como se ha mencionado anteriormente en el trabajo, la alfa-sinucleína puede encontrarse en fluidos como la sangre y el líquido cefalorraquídeo (LCR). Su presencia en estos fluidos ha llevado a investigar sobre la liberación de AS al medio extracelular, aunque el mecanismo por el cual se libera no se sabe con exactitud. Se han realizado estudios con anticuerpos, tanto *in vivo* como *in vitro* que sugieren que la AS no se secreta en vesículas ya que los anticuerpos acceden fácilmente a su estructura (10).

Sin embargo, existe cierta evidencia de que la AS puede secretarse en exosomas y que esta secreción es dependiente de calcio. Al liberarse y encontrarse en el espacio extracelular, ésta puede ser degradada por enzimas de la matriz como las metaloproteasas o bien ser internalizada por neuronas y células de la glía (12).

- **Transporte axonal de alfa-sinucleína**

Asimismo, se ha comprobado mediante experimentos *in vitro* e *in vivo* que la AS también se transporta a través de los axones. Para ello, se inyectaron en el cerebro de ratón conformaciones tóxicas de AS y se observó agregación tanto en la zona de inyección como en zonas del cerebro más distales. Estas últimas se conectan con la zona de inyección por medio de proyecciones axonales lo que explicaría el transporte axonal de AS (10).

- **Internalización de alfa-sinucleína**

En estudios *in vitro* e *in vivo* se ha comprobado que las células son capaces de incorporar AS en su interior; por ejemplo, en ratones a los que se inyectaron CL y fibrillas procedentes de pacientes se vio que ambas formaciones fueron internalizadas por células de la glía y neuronas del roedor. Esta internalización puede darse por endocitosis o por un receptor ligado a endocitosis, y tanto un descenso de la temperatura como la presencia de inhibidores de dinamina I reducen dicho proceso. En cuanto a la endocitosis mediada por receptor, se ha descrito la unión de AS al receptor LAG-3, presente en la membrana de la glía y las neuronas, y cuya ausencia disminuye el mal plegamiento y el transporte de la proteína *in vitro* e *in vivo* (10).

Para poder observar el proceso de endocitosis se han utilizado fibras de AS unidas al indicador PHrodo, gracias al cual se detecta una relación entre la emisión de fluorescencia y la endocitosis de fibrillas. Paralelamente a estas dos vías de internalización, existe también la hipótesis de que la AS atraviesa la membrana celular por difusión pasiva gracias a su capacidad de unión a lípidos. Actualmente, se desconoce cómo la AS sale del endosoma una vez está en el interior celular; aunque se cree que podría llegar al citoplasma por penetración y lisis de la membrana del endosoma (10).

La alfa-sinucleína, una vez secretada, transportada e internalizada, ha demostrado *in vitro* e *in vivo* ser capaz de inducir el mal plegamiento tanto de otras proteínas con tendencia a la agregación como de proteínas que normalmente no se plegarían, de manera que toda la red proteostática quedaría dañada. Así, estos procesos participan de manera significativa en la evolución y aumento de los cambios neurodegenerativos característicos de las alfa-sinucleinopatías. También podrían cumplir una función fisiológica aún desconocida (12,18).

5.4. Neurotoxicidad de la alfa-sinucleína

Con la formación de agregados de alfa-sinucleína, como consecuencia de su acumulación y mal plegamiento, aparece toxicidad celular. Las vías celulares dañadas pueden ser diferentes dependiendo de la sinucleinopatía, ya que puede haber variaciones en las células afectadas y las interacciones proteicas. Además, factores como el envejecimiento o la variabilidad genética también pueden influir en la afectación de unas vías u otras. La investigación sobre cómo la alfa-sinucleína produce toxicidad se lleva a cabo *in vitro* e *in vivo* mediante la sobreexpresión de la proteína salvaje, la expresión de mutaciones relacionadas con el gen SNCA, o por medio de la inyección o incubación de oligómeros o fibrillas (15).

Todavía no se ha definido con exactitud el mecanismo y las conformaciones de la proteína implicadas en la toxicidad, se cree que los oligómeros no fibrilares podrían ser los responsables de ésta y de la consiguiente degeneración neuronal (17).

La toxicidad relacionada con la alfa-sinucleína aparece en distintos compartimentos celulares como son la membrana celular, la mitocondria, el núcleo y los orgánulos implicados en el tráfico vesicular: el retículo endoplasmático (RE) y el aparato de Golgi (AG). Se propone la pérdida de la integridad de la membrana citoplasmática como ruta principal por la cual los oligómeros de AS producen toxicidad. Estudios *in vitro* han revelado que la AS es capaz de formar estructuras semejantes a poros que posibilitan la difusión de moléculas e iones. Así, la permeabilidad a los cationes es mayor en células que expresan AS, especialmente para el Ca²⁺. (19, 20). El Ca²⁺ participa en la regulación de diversos mecanismos de señalización, salud y toxicidad de las neuronas. Por lo tanto, una alteración en la homeostasis de Ca²⁺ aumenta la susceptibilidad de muerte neuronal (21).

Paralelamente a la afectación sobre las membranas celulares, una de las características de las alfa-sinucleinopatías es la deficiencia en la actividad mitocondrial, ya que la AS posee una mayor afinidad por la membrana de este orgánulo en comparación con las membranas de otros compartimentos celulares. Si bien las mitocondrias tienen su propio ADN, es en el núcleo de la célula donde están codificadas la mayoría de sus proteínas, lo que explica que más del 99% de éstas necesitan incorporarse a la mitocondria desde el citoplasma. Esto es posible gracias a sistemas de transporte como el complejo de proteínas TOM (*Translocase of the Outer Membrane*) y el canal VDAC (*Voltage-Dependent Anion Channel*), ubicados en la membrana externa mitocondrial. Existe evidencia de que la AS interactúa con ambos sistemas; por un lado, la interacción con TOM podría afectar al Complejo I de la cadena de transporte de electrones a lo que se suma un fallo metabólico y una mayor presencia de ROS (*Reactive Oxygen Species*). Por otro lado, al interactuar con VDAC se podría ver alterada la actividad de la ATPsintasa junto a una disminución del potencial de membrana y un deterioro en el proceso de fosforilación oxidativa. De este modo, la interacción de la AS con ambos sistemas de transporte influye tanto en la función como en el mantenimiento de la estructura de este orgánulo y puede derivar en una mitocondria disfuncional. Esta pérdida de función mitocondrial se ha asociado, en particular, con el dominio N-terminal de la proteína (19,22).

En relación a otros compartimentos celulares, se ha encontrado que el extremo C-terminal parece tener un papel significativo en la acumulación nuclear de AS. A este nivel, la AS interfiere con los mecanismos epigenéticos lo que afecta a la regulación de la transcripción y contribuye al daño neuronal (19).

De forma complementaria, las conformaciones tóxicas de AS también inducen cambios sobre los orgánulos implicados en el tráfico vesicular. Se han descrito algunos marcadores de estrés del retículo endoplasmático (RE) en neuronas dopaminérgicas del cuerpo estriado en cerebros con EP y en células de la glía como los oligodendrocitos en cerebros con AMS. El retículo endoplasmático está involucrado en la respuesta a proteínas mal plegadas para lo que activa el sistema UPR (*Unfolded Protein Response*), que bien recupera el correcto plegamiento de la proteína o bien la conduce a su apoptosis. Se ha visto que la AS sobreexpresada o mutada lleva a la hiperactivación de este sistema y con ello a un incremento del estrés en el RE. El estrés generado en el RE también puede relacionarse con el tráfico entre el RE y el AG. De este modo, la presencia de oligómeros de AS en estudios *in vitro* se correlacionó con variaciones en el tráfico entre ambos orgánulos y con la fragmentación del aparato de Golgi (19,22).

Por otra parte, la toxicidad de la alfa-sinucleína se asocia también con sus sistemas de degradación. Su plegamiento incorrecto bloquea la macroautofagia a través de la unión de los agregados formados con diferentes componentes esenciales de la vía de autofagia-lisosomal. También, el sistema ubiquitina-proteasoma puede verse afectado, pues se ha visto *in vitro* que agregados de AS se unen de manera selectiva al proteasoma. En modelos de sinucleinopatías se hallaron subunidades del proteasoma junto a oligómeros de AS, lo que explicaría que estas conformaciones pueden unirse al proteasoma, bloquearlo y con ello, desestabilizar la proteostasis celular (22).

Por último, cabe destacar el papel de los agregados de alfa-sinucleína en las células de la glía cuya disfunción se relaciona principalmente con la atrofia multisistémica (AMS); aunque también se ha observado activación de la microglía en pacientes con enfermedad de Parkinson (EP) (15).

Cuando los agregados de alfa-sinucleína actúan sobre la glía se ha observado neuroinflamación. Estudios hechos en modelos de ratón con toxicidad por AS han reflejado un descenso tanto en la activación microglial como en la neurodegeneración dopaminérgica ante un debilitamiento del complejo mayor de histocompatibilidad II (CMH II), lo que podría relacionar a esta molécula clave de la respuesta inmune con la inflamación neuronal observada. Otros dos posibles mecanismos por el cual la AS podría generar una respuesta neuroinflamatoria sería, por un lado, la propuesta de que la AS extracelular es un agonista endógeno del receptor TLR2 lo que lleva a la activación microglial y, por otro lado, la teoría de que los oligómeros de AS se unen de forma directa a los receptores TLR1/2 induciendo una respuesta proinflamatoria (15).

5.5. Estrategias terapéuticas y fármacos dirigidos

Las estrategias terapéuticas (Figura 4) que se proponen a continuación están dirigidas a disminuir la toxicidad producida por alfa-sinucleína en la enfermedad de Parkinson, la DCL y la AMS. Atendiendo a la patogénesis molecular de la proteína, los objetivos terapéuticos pueden ser (23):

- I. Reducción de la expresión génica.
- II. Inhibición de la agregación.
- III. Bloqueo de la propagación.
- IV. Incremento de la degradación.

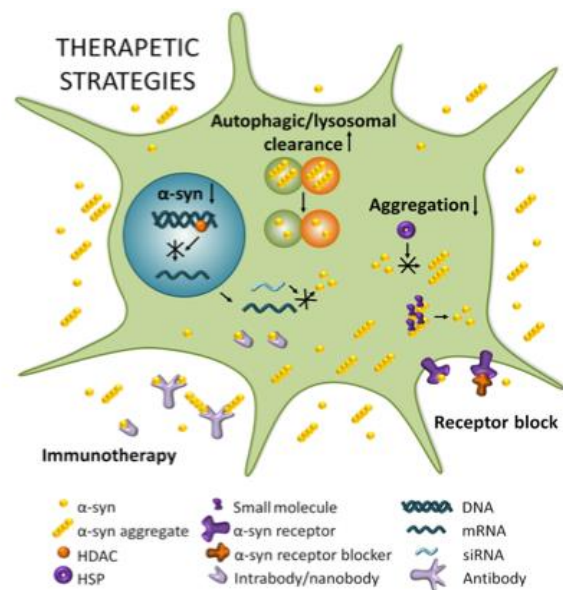


Figura 4. Estrategias terapéuticas sobre la AS (23)

I. Reducción de la expresión génica

Con la reducción de la expresión de alfa-sinucleína, la concentración de la proteína en el citoplasma disminuye y en consecuencia, el riesgo de que ésta se pliegue y adopte una conformación anómala será menor. Este enfoque terapéutico también se relaciona con las duplicaciones y triplicaciones del gen SNCA que conducen al desarrollo de la EP (24).

Entre los métodos utilizados para disminuir la expresión de AS se encuentra el **ARN interferente (ARNi)** que produce el silenciamiento de genes. Los primeros estudios utilizaron moléculas de ARNi dirigidas al gen de AS en cultivos celulares y en modelos de roedores. *In vivo*, el ARNi de horquilla corta (sh) suministrado por medio de un vector viral silenció la expresión ectópica de AS humana en el núcleo estriado del roedor. Por otro lado, el ARN interferente pequeño suministrado durante dos semanas en el hipocampo del roedor, disminuyó la expresión de AS endógena. En ninguno de los dos casos se observó toxicidad a causa del tratamiento con ARNi (24).

Otra vía terapéutica para reducir la expresión implica a los **agonistas β_2 adrenérgicos** (Ej. metaproterenol, clenbuterol, salbutamol) (Figura 5) como moduladores de la transcripción

B

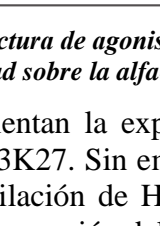
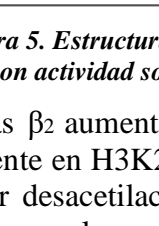
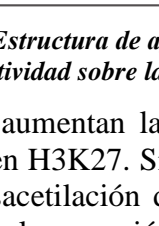
No.	Name	Class	Structure	FDA approved	Indication	Blood-brain penetrant
1.	Metaproterenol	β_2 -Adrenoreceptor Agonist		Yes	Asthma	No
2.	Clenbuterol	β_2 -Adrenoreceptor Agonist		No	Asthma	Yes
3.	Salbutamol	β_2 -Adrenoreceptor Agonist		Yes	Asthma	Yes

Figura 5. Estructura de agonistas β_2 adrenérgicos con actividad sobre la alfa-sinucleína (25)

génica de AS. Los receptores β_2 adrenérgicos se expresan en la sustancia negra y en la corteza cerebral, ambas zonas afectadas por la EP. Los fármacos agonistas de estos receptores podrían regular la transcripción por alteración de la actividad de la histona desacetilasa (HDAC) en regiones promotoras y potenciadores del gen SNCA. En dos análisis epidemiológicos en modelos de ratón con EP se han estudiado los efectos de la activación de estos receptores comprobando que los fármacos antagonistas β_2 aumentan la expresión del gen SNCA mediante la acetilación de histonas, concretamente en H3K27. Sin embargo, los fármacos agonistas β_2 disminuyeron la expresión del gen por desacetilación de H3K27. Estos resultados permiten asociar a los agonistas β_2 adrenérgicos con la expresión del gen de AS y el riesgo de EP (23,25).

No obstante, enfocar la terapéutica hacia una reducción de la expresión de AS podría tener un impacto significativo sobre su posible función fisiológica. Se vio, en estudios con animales, que una reducción de la expresión de más del 90% llevaba a una neurodegeneración del sistema nigroestriado. Por ello, será fundamental determinar el grado de reducción necesario para inhibir la agregación de la proteína sin perjudicar a la homeostasis fisiológica (23,24).

II. Inhibición de la agregación

Dado que la formación de oligómeros y fibrillas es clave en la neurotoxicidad producida por AS, a continuación, se proponen diversos compuestos que actúan bloqueando el proceso de agregación en las diferentes etapas.

Escualamina (Figura 6): es un antimicrobiano con estructura de aminosterol que fue aislado por primera vez del tejido de *Squalus acanthias*, y es conocido por su actividad anticancerígena y antiviral. En estudios *in vitro* e *in vivo* se ha demostrado que la escualamina inhibe la agregación de AS en su etapa inicial y mitiga la toxicidad atribuida al mal plegamiento de la proteína. Como mecanismo de acción se sugiere que interrumpe la unión de la AS a las membranas lipídicas; ya que, se observó que en presencia de escualamina disminuye gradualmente el contenido estructural de AS en alfa-hélice. Este compuesto, también podría ser útil en la inhibición de la propagación al bloquear la unión a membranas de las conformaciones tóxicas extracelulares y con ello, su absorción neuronal (26,27).

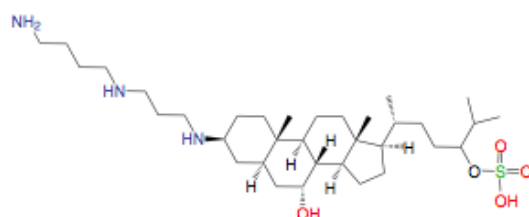


Figura 6. Estructura química de la escualamina (27)

Curcumina: se trata de un principio activo natural con estructura de polifenol que tiene propiedades antiinflamatorias y antioxidantes. Un estudio en modelos de roedores con EP inducido por LPS (potente activador glial) reveló, a causa de la inyección de LPS, una cascada inflamatoria en respuesta a la inflamación glial. En consecuencia, se alteraron los niveles de glutatión (GSH), lo que aumentó el estrés oxidativo y el plegamiento anómalo de varias proteínas. En dicho estudio, la curcumina inhibió la agregación de AS por mediación de varios mecanismos: inhibición de la astrogliosis; reducción de la liberación de mediadores de la inflamación; recuperación del equilibrio de GSH y finalmente, disminución del estrés oxidativo que se tradujo en una menor agregación proteica. Por su facilidad para atravesar la barrera hematoencefálica, su bajo coste y por haber mostrado ser seguro en estudios preclínicos, se propone como una terapia con futuro en el tratamiento de las distintas sinucleinopatías (28).

Gingenósido Rb1 (Gn Rb1) (Figura 7): es una saponina triterpénica extraída del Ginseng. Un estudio realizado sobre los ginsenósidos más utilizados (Rb1, Rg1 y Rg3) ha demostrado

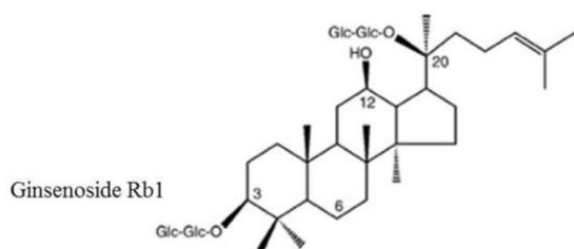


Figura 7. Estructura química del gingenósido Rb1 (29)

que Rb1 bloquea la fibrilación de alfa-sinucleína *in vitro* mediante la estabilización de los oligómeros solubles sin contenido en lámina beta. Por lo tanto, se propone al Gn Rb1 como neuroprotector debido a su capacidad para inhibir la formación de fibrillas insolubles ricas en lámina beta, y a sus propiedades antiinflamatoria y antioxidante (29).

Ácido gálico (ácido 3, 4, 4-trihidroxibenzoico) (Figura 8): compuesto fenólico de origen natural que se une a los oligómeros solubles y estabiliza su estructura, bloqueando la agregación de AS. La interacción de este compuesto con las formas oligoméricas supone una ventaja terapéutica por no interceptar con la función fisiológica de la proteína monomérica. Tras el estudio de varios ácidos fenólicos se ha podido conocer la relación estructura-actividad del ácido gálico. Así pues, la presencia de grupos hidroxilo (-OH) y su posición con respecto al ácido benzoico, influyen en la capacidad de inhibición. Adicionalmente, el equilibrio entre las especies de hidroquinona y *orto*-quinona del ácido gálico puede desplazarse hacia la forma quinona lo que aumenta la actividad. El ácido gálico también protege frente a la neurotoxicidad gracias a su acción antiinflamatoria, antioxidante y sus propiedades antiapoptóticas (30).

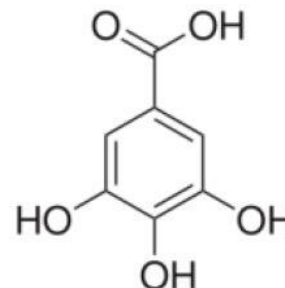


Figura 8. Estructura química del ácido gálico (30)

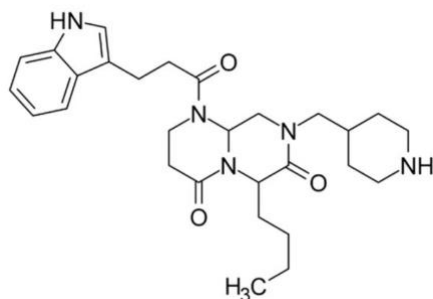


Figura 9. Estructura química de NPT100-18A

NPT100-18A (Figura 9): es un compuesto peptidomimético que mimetiza los residuos 96-102 de la estructura de AS. Los estudios sobre este compuesto sugieren que actúa desplazando a la AS de la membrana lipídica al interactuar con la estructura proteica, más frecuentemente con los residuos 81 (Thr), 82 (Val) y 83 (Glu). Con ello, disminuye la formación de dímeros y oligómeros. Además, NPT100-18A mejoró los síntomas motores y la neurodegeneración en distintos modelos de sinucleinopatías de forma dependiente de la dosis (31).

SynuClean-D (SC-D) (Figura 10): se trata de un compuesto heterocíclico metabólicamente estable que puede inhibir más del 50% de la agregación de AS *in vitro* cuando se encuentran en una relación 0,7:1 (AS:SC-D). En su interacción con AS, parece que el compuesto se une a una cavidad interna presente en los agregados fibrilares. SC-D se une al estado monomérico soluble, sin afectar así al papel fisiológico de la proteína. Además, presenta una baja toxicidad y accede fácilmente a la célula (32).

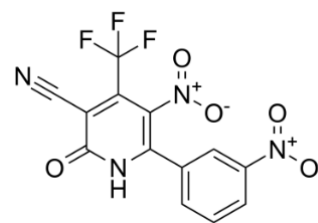


Figura 10. Estructura química de SynuClean D

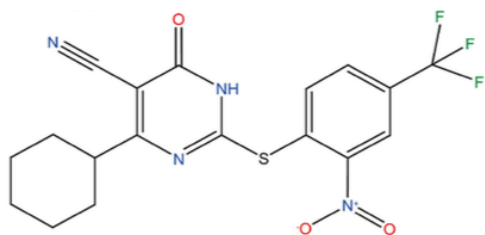


Figura 11. Estructura química de ZPD-2 (33)

ZPD-2 (Figura 11): se trata de una molécula pequeña relacionada estructuralmente con la anterior y capaz de inhibir la agregación de AS en diferentes estados de solubilidad, lo que hace interesante su uso si hay variación de cepas entre las diferentes sinucleinopatías. La administración de ZPD-2 en dos modelos distintos de *Caenorhabditis elegans* con EP que expresan AS ha disminuido la cantidad de agregados de proteína y la neurodegeneración dopaminérgica. Su mecanismo de acción es dependiente de la dosis y del tiempo, especialmente con una actividad más notable en las primeras horas (0-8h) (33).

Anle138b (Figura 12): su capacidad para disminuir la agregación de AS mal plegada se ha estudiado en modelos animales con EP y AMS temprana. Los resultados alcanzados en un modelo de ratón con AMS proponen que, este compuesto disminuye la acumulación de AS al dirigirse de manera específica a los oligómeros. De esta manera, se mantienen las funciones fisiológicas de la proteína al no interferir con la conformación monomérica. Además, se observó una reducción del 30% de las inclusiones citoplasmáticas gliales del núcleo estriado y la sustancia nigra. Anle138b ha demostrado ser un compuesto seguro a dosis terapéuticas, que atraviesa la barrera hematoencefálica (BHA), y presenta una buena biodisponibilidad oral (23,34).

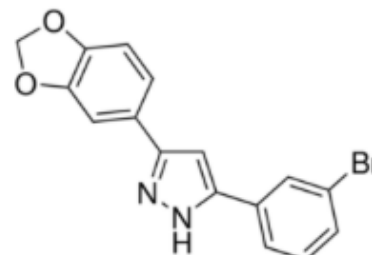


Figura 12. Estructura química de Anle138b

III. Bloqueo de la propagación

Resulta difícil dirigir la terapéutica exclusivamente a frenar la propagación ya que muchos compuestos podrían actuar también sobre la AS endógena. Un método eficaz para controlar la propagación sería bloquear el receptor LAG3, que está implicado en la captación neuronal por endocitosis de AS extracelular. Por otro lado, un estudio planteó como mediadores de la absorción de fibrillas amiloides a los proteoglicanos de heparán sulfato, presentes en la superficie celular. Se introdujo heparina e hidrato de cloral en cultivos celulares y se observó una disminución en la absorción endocítica de AS por alteración de los proteoglicanos (23).

Más adelante en este trabajo, se abordará la inmunoterapia como una vía terapéutica en desarrollo para bloquear la propagación de AS entre neuronas.

IV. Incremento de la degradación

La autofagia-lisosomal es una de las vías de degradación de AS cuya disfunción se relaciona con un incremento en la formación de agregados intracelulares y una activación de las vías de secreción no clásicas. De este modo, aumenta la cantidad tanto de agregados intracelulares como extracelulares, lo que supone una mayor carga patológica en las neuronas y una mayor propagación entre células. Esto explica que actuar sobre los procesos de degradación sea una estrategia terapéutica interesante (23).

Rapamicina: es un inhibidor de mTOR. Este compuesto forma parte de los complejos proteicos mTORC1 y mTORC2, y es esencial en la regulación de la apoptosis y la autofagia. Así, al inhibir a mTOR, se obtienen efectos neuroprotectores debido a un aumento de la eliminación de AS por inducción de procesos autofágicos. Como inconveniente, la rapamicina carece de especificidad y actúa sobre otras vías relacionadas con la inmunosupresión, por lo que su uso como fármaco en enfermedades crónicas como las alfa-sinucleinopatías presenta muchas limitaciones (23,24).

MSDC-0160 (mitoglitazona) (Figura 13): es un inhibidor del transportador de piruvato mitocondrial (MPC). Al disminuir la cantidad de piruvato que llega a la mitocondria, se descontrola el metabolismo en este compartimento celular, lo que deriva en la inhibición de mTOR y por lo tanto, en una regulación favorable de la degradación autofágica de AS. Se ha comprobado también que este compuesto ejerce una función protectora sobre las neuronas dopaminérgicas del mesencéfalo en un modelo genético de ratón con EP crónica (23).

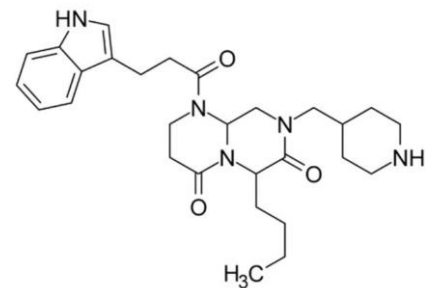


Figura 13. Estructura química de MSDC-0160

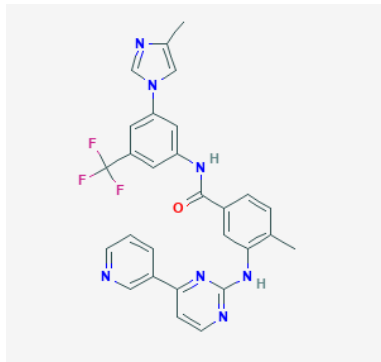


Figura 14. Estructura química de nilotinib

Nilotinib (Figura 14): se trata de un inhibidor de la tirosina quinasa de Abelson (TK-Abl), aprobado por la FDA para su uso en la leucemia mieloide crónica (LMC) a dosis orales de 600-800 mg/día. Se realizó un estudio piloto en 30 pacientes con DCL o con EP avanzada con demencia a los que se les administró, durante 24 semanas, dosis de nilotinib de 150 o 300 mg/día que resultaron seguras y bien toleradas por los pacientes. Los resultados obtenidos sugieren que nilotinib ingresa en el SNC e inhibe la TK-Abl, lo que promueve la degradación por autofagia de AS. Paralelamente, su administración redujo el estrés oxidativo neuronal (35).

Otro objetivo propuesto para aumentar la degradación de la alfa-sinucleína es actuar sobre la enzima lisosomal beta-glucocerebrosidasa (β -GCasa), ya que favorece la eliminación de AS en las neuronas. Las mutaciones en el gen GBA1, que codifica para β -GCasa, son características de la enfermedad de Gaucher, un factor de riesgo para la EP. En relación, se ha visto que ha disminuido la cantidad de oligómeros de AS en aquellos pacientes con enfermedad de Gaucher tratados con terapia de reemplazo de enzimas GCasa durante más de 5 años, en comparación con los que no fueron tratados (14,24).

5.6. Inmunoterapia

Se han investigado diversos anticuerpos dirigidos a la AS como diana, que actúan, principalmente, bloqueando la propagación por interacción con AS extracelular. También se ha visto que por activación fisiológica de la microglía y reducción de la liberación de citoquinas proinflamatorias, la inmunoterapia ejerce un efecto antiinflamatorio en las enfermedades neurodegenerativas (24, 36).

A continuación, se detallan algunos anticuerpos que han demostrado ser bien tolerados y presentar un buen perfil de seguridad en ensayos preclínicos y en ensayos clínicos de fase I. También, se han hecho estudios de fase II donde se han proporcionado más datos sobre la eficacia de los anticuerpos (36).

PRX002, también denominado anticuerpo 9E4, fue el primer anticuerpo probado contra la AS. Corresponde con un modelo de inmunización pasiva, y fue desarrollado por la empresa neurocientífica Prothena. Se trata de un anticuerpo monoclonal IgG1 que actúa sobre el dominio C terminal con una afinidad hasta 400 veces mayor por la conformación oligomérica que por la forma monomérica de la proteína. A raíz de un estudio preclínico *in vivo* se vio que la administración pasiva de PRX002 bloqueó la transmisión de neurona a neurona y disminuyó la toxicidad celular producida por AS. También se observó una mejoría en los síntomas motores y cognitivos de los roedores transgénicos con EP. Más adelante, un estudio de fase I con dosis múltiples ascendentes en pacientes con EP reveló que, PRX002 es un anticuerpo seguro y bien tolerado por los pacientes a dosis de hasta 60 mg/kg. Su concentración en líquido cefalorraquídeo (LCR) fue en torno al 0,3% con respecto a la concentración en suero, y ésta aumentó proporcionalmente a la dosis en ambos fluidos. En los resultados obtenidos, los niveles de AS sérica cayeron hasta un 97% con la dosis más alta (60 mg/kg). Actualmente, este anticuerpo se encuentra en un ensayo clínico de fase II en pacientes con EP recién diagnosticada (estudio PASADENA) (36,37).

BIIB054, también conocido como anticuerpo 12F4, es un anticuerpo monoclonal humano de tipo IgG1 anti-AS (inmunización pasiva). En la actualidad, es investigado por la compañía farmacéutica Biogen. Se aisló por primera vez de los linfocitos B de individuos sanos. Actúa sobre el dominio N-terminal de la estructura proteica, y su afinidad es 800 veces mayor por la forma agregada de AS. En un ensayo de fase I en individuos enfermos de Parkinson, se observó la formación de un complejo BIIB054-AS en suero. Éste mostró seguridad y buena tolerabilidad a dosis de 45 mg/kg en los pacientes con un relación de la concentración en suero y LCR entre el 0,3% (grupo de 45 mg/kg) y el 0,5% (grupo de 15 mg/kg) en pacientes con EP. Hoy en día, el anticuerpo 12F4 se está investigando en un estudio de fase II en pacientes con EP temprana (estudio SPARK) (36,37,38).

AFFITOPE PD01A / PD03A: se trata del único modelo de vacuna (inmunización activa) dirigido a la AS desarrollado por el momento, en concreto, por la compañía austriaca Affiris. Es una vacuna sintética que consta de pequeños fragmentos peptídicos de AS. Se llevaron a cabo estudios preclínicos en modelos animales con distintas sinucleinopatías, incluidas EP, DCL, AMS. Los resultados demostraron que ambas variedades de epítomos (PD01A y PD03A) estimularon el sistema inmune con una fuerte producción de anticuerpos selectivos para la forma agregada de AS. Con ello, disminuyeron los niveles AS mal plegada y la neurodegeneración, y mejoraron los déficits motores en modelos de EP y AMS. Además, cabe destacar que no produjo neuroinflamación ni daño neuronal. Posteriormente, se hicieron ensayos de fase I en pacientes con EP temprana y controles sanos, a los que se administraron

vía subcutánea dosis de 15 o 75 microgramos con adyuvante de oxihidróxido de aluminio cada 4 semanas. Los datos concluyentes mostraron un buen perfil de seguridad de la vacuna. Más adelante, se les administraron dos dosis de refuerzo con las que se observó un aumento progresivo en la producción de anticuerpos contra AS. No obstante, al cabo de 1 año no se detectaron diferencias clínicas entre el grupo tratado con la vacuna y el grupo control, por lo que es fundamental la realización de ensayos clínicos futuros (23,36).

MEDI1341: anticuerpo específico y de alta afinidad para alfa-sinucleína. A través de estudios *in vitro* se han alcanzado resultados que demuestran que MEDI1341 es capaz de mitigar el proceso de propagación de especies tóxicas de AS. Se sugiere que el anticuerpo se une a las especies tóxicas evitando o retrasando su internalización por la célula receptora. Posteriormente, se realizaron estudios en animales a los que se les administró una dosis única o dosis repetidas del anticuerpo. Se vio que éste accede al SNC en cantidades pequeñas pero, de forma rápida, observándose una reducción de los niveles extracelulares de AS, que se mantuvo durante varios días (dosis única) o semanas (dosis repetidas). Recientemente, MEDI1341 se encuentra en un ensayo clínico de fase I (39).

6. CONCLUSIONES

El descubrimiento de la alfa-sinucleína como causa subyacente en el desarrollo de las alfa-sinucleinopatías ha permitido avanzar en su investigación como diana terapéutica. Aunque su función fisiológica no está completamente definida, los estudios realizados sugieren que tiene un papel regulador en la sinapsis y en particular, en la homeostasis dopaminérgica. Cuando las condiciones fisiológicas se alteran por diversos factores (mutaciones genéticas, estrés oxidativo, fallo en las vías de degradación, etc.) se favorece el mal plegamiento de la proteína hasta la formación de agregados en el interior celular. Estas inclusiones citoplasmáticas resultan tóxicas para las neuronas al alterar la función e integridad de las mismas, lo que se traduce en la neurodegeneración característica de estas enfermedades.

Por todo ello, existe una línea de investigación centrada en el descubrimiento de compuestos que actúan sobre la AS desde diferentes enfoques terapéuticos. Se han probado distintos compuestos en estudios, tanto en modelos animales como en ensayos clínicos en pacientes con EP, DCL y AMS, y en su mayoría, parecen prometedores. Sin embargo, sigue siendo fundamental el desarrollo de estudios futuros. De esta manera, el tratamiento de las alfa-sinucleinopatías se alejará de un tratamiento exclusivamente sintomático, y se afrontará desde su historia natural.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Enríquez S. S., Mora A. E. R., López L. del S. V, Becerra B. I. C, Hernández M.A.D, Hita M.E.G. *Mecanismos de daño celular en enfermedades neurodegenerativas*. Investigación en Salud (México). 2007; 9(3): 205-13.
2. Dugger B. N., Dickson D. W. *Pathology of Neurodegenerative Diseases*. Cold Spring Harb Perspect Biol. 2017; 9(7): 1-22.
3. Arriagada P. *Neuropatología de las demencias neurodegenerativas*. Rev Med Clin Condes. 2016; 27(3): 297-308.
4. Fernández-Espejo E. *Agregación de alfa-sinucleína y degeneración parkinsoniana*. Fisiología. 2013; 17-19
5. Martínez-Fernández R., Gasca-Salas C., Sánchez-Ferro A. S., Obeso J. A. *Actualización en la enfermedad de Parkinson*. Rev Med Clin Condes. 2016; 27(3): 363-79.

6. Marín, D., Carmona H., Ibarra M., Gámez M. *Enfermedad de Parkinson: fisiopatología, diagnóstico y tratamiento*. Rev Univ Ind Santander Salud. 2018; 50(1): 79-92.
7. Bellas-Lamas P., Rodríguez-Regal A., Cebrián-Pérez E. *Demencia por cuerpos de Lewy*. Rev Neurol. 2012; 54 (Supl 4): S67-74.
8. Duarte-Martín J. J., Riveira-Rodríguez M. C. *Último minuto en atrofia multisistémica*. Rev Neurol. 2012; 54 (Supl 4): S45-51.
9. Martínez J. H. *Rol de alfa-sinucleína en la función y dinámica mitocondrial en modelos experimentales de la Enfermedad de Parkinson*. [Tesis doctoral]. Buenos Aires: Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires; 2016.
10. Zazurca L. U. *Funciones de la proteína priónica celular, α -sinucleína y reelina en enfermedades neurodegenerativas*. [Tesis doctoral]. Barcelona: Facultad de Biología, Universidad de Barcelona; 2018.
11. Suh Y-H., Checler F. *Amyloid Precursor Protein, Presenilins, and α -Synuclein: Molecular Pathogenesis and Pharmacological Applications in Alzheimer's Disease*. Pharmacol Rev. 2002; 54(3): 469-525.
12. Burré J., Sharma M., Südhof T. C. *Cell Biology and Pathophysiology of α -Synuclein*. Cold Spring Harb Perspect Med. 2018; 8(3): 1-28.
13. Goedert M., Jakes R., Spillantini M. G. *The Synucleinopathies: Twenty Years On*. J Parkinsons Dis. 2017; 7(s1): S51-S69.
14. Ryskalin L., Busceti C. L., Limanaqi F., Biagioni F., Gambardella S., Fornai F. *A Focus on the Beneficial Effects of Alpha Synuclein and a Re-Appraisal of Synucleinopathies*. Curr Protein Pept Sci. 2018; 19(6): 598–611.
15. Wong Y. C., Krainc D. *α -synuclein toxicity in neurodegeneration: mechanism and therapeutic strategies*. Nature Medicine. 2017; 23(2): 1-13.
16. Xu L., Pu J. *Alpha-Synuclein in Parkinson's Disease: From Pathogenetic Dysfunction to Potential Clinical Application*. Parkinson's Disease. 2016; vol. 2016: 1-10.
17. Oyarzo L. M. D. *Caracterización del efecto de Latrepirdina en modelos de sobreexpresión de alfa-sinucleína*. [Tesis doctoral]. Chile: Universidad Andrés Bello; 2017.
18. Sweeney P., Park H., Baumann M., Dunlop J., Frydman J., Kopito R., et al. *Protein misfolding in neurodegenerative diseases: implications and strategies*. Transl Neurodegener. 2017; 6(1): 1-13.
19. Bernal-Conde L.D., Ramos-Acevedo R., Reyes-Hernández M.A., Balbuena-Olvera A.J., Morales-Moreno I.D., Argüero-Sánchez R., et al. *Alpha-Synuclein Physiology and Pathology: A Perspective on Cellular Structures and Organelles*. Front Neurosci. 2020; 13: 1-22.
20. Cookson MR. *α -Synuclein and neuronal cell death*. Mol Neurodegener. 2009; 4(1): 1-14.
21. Butler B., Sambo D., Khoshbouei H. *Alpha-synuclein modulates dopamine neurotransmission*. J Chem Neuroanat. 2017; 83-84: 41–9.
22. Villar-Piqué A., Lopes da Fonseca T., Outeiro T.F. *Structure, function and toxicity of alpha-synuclein: the Bermuda triangle in synucleinopathies*. J Neurochem. 2016; 139(S1): 240–55.
23. Fields CR., Bengoa-Vergniory N., Wade-Martins R. *Targeting Alpha-Synuclein as a Therapy for Parkinson's Disease*. Front Mol Neurosci. 2019; 12: 1-14.
24. Brundin P., Dave KD., Kordower JH. *Therapeutic approaches to target alpha-synuclein pathology*. J Exp Neurol. 2017; 298: 225–35.
25. Mittal S., Bjørnevik K., Im DS., Flierl A., Dong X., Locascio JJ., et al. *β 2-Adrenoreceptor is a regulator of the α -synuclein gene driving risk of Parkinson's disease*. Science 2017; 357: 891-98.
26. Pineda A., Burré J. *Modulating membrane binding of α -synuclein as a therapeutic strategy*. Proc Natl Acad Sci U S A. 2017; 114(6): 1223–5.

27. Perni M., Galvagnion C., Maltsev A., Meisl G., Müller MBD., Challa PK., et al. *A natural product inhibits the initiation of α -synuclein aggregation and suppresses its toxicity*. Proc Natl Acad Sci U S A. 2017; 114(6): E1009–17.
28. Sharma N., Nehru B. *Curcumin affords neuroprotection and inhibits α -synuclein aggregation in lipopolysaccharide-induced Parkinson's disease model*. Inflammopharmacology. 2018; 26(2): 349–60.
29. Ardah MT., Paleologou KE., Lv G., Menon SA., Abul Khair SB., Lu J-H., et al. *Ginsenoside Rb1 inhibits fibrillation and toxicity of alpha-synuclein and disaggregates preformed fibrils*. Neurobiol Dis. 2014; 74: 89–101.
30. Ardah MT., Paleologou KE., Lv G., Abul Khair SB., Kazim AS., Minhas ST., et al. *Structure activity relationship of phenolic acid inhibitors of α -synuclein fibril formation and toxicity*. Front Aging Neurosci. 2014; 6: 1-17.
31. Wrasidlo W., Tsigelny IF., Price DL., Dutta G., Rockenstein E., Schwarz TC., et al. *A de novo compound targeting α -synuclein improves deficits in models of Parkinson's disease*. Brain; 2016; 139(12): 3217-3236.
32. Pujols J., Peña-Díaz S., Lázaro DF., Peccati F., Pinheiro F., González D., et al. *Small molecule inhibits α -synuclein aggregation, disrupts amyloid fibrils, and prevents degeneration of dopaminergic neurons*. Proc Natl Acad Sci U S A. 2018; 115(41):10481–6.
33. Peña-Díaz S., Pujols J., Conde-Giménez M., Čarija A., Dalfo E., García J., et al. *ZPD-2, a Small Compound That Inhibits α -Synuclein Amyloid Aggregation and Its Seeded Polymerization*. Front Mol Neurosci. 2019; 12: 1-12.
34. Heras-Garvin A., Weckbecker D., Ryazanov S., Leonov A., Griesinger C., Giese A., et al. *Anle138b modulates α -synuclein oligomerization and prevents motor decline and neurodegeneration in a mouse model of multiple system atrophy*. Mov Disord. 2019; 34(2): 255–63.
35. Pagan F., Hebron M., Valadez EH., Torres-Yaghi Y., Huang X., Mills RR., et al. *Nilotinib Effects in Parkinson's disease and Dementia with Lewy bodies*. J Parkinsons Dis. 2016; 6(3): 503–17.
36. Shin J., Kim H-J., Jeon B. *Immunotherapy Targeting Neurodegenerative Proteinopathies: α -Synucleinopathies and Tauopathies*. J Mov Disord. 2020; 13(1): 11–19.
37. Zella M., Metzendorf J., Ostendorf F., Maass F., Muhlack S., Gold R., et al. *Novel Immunotherapeutic Approaches to Target Alpha-Synuclein and Related Neuroinflammation in Parkinson's Disease*. Cells. 2019; 8(2): 1-20.
38. Chan DKY., Xu YH., Chan LKM., Braidy N., Mellick GD. *Mini-review on initiatives to interfere with the propagation and clearance of alpha-synuclein in Parkinson's disease*. Transl Neurodegener. 2017; 6(1): 1–5.
39. Schofield DJ., Irving L., Calo L., Bogstedt A., Rees G., Nuccitelli A., et al. *Preclinical development of a high affinity α -synuclein antibody, MED1341, that can enter the brain, sequester extracellular α -synuclein and attenuate α -synuclein spreading in vivo*. Neurobiol Dis. 2019; 132: 1-13.