



FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

TRABAJO FIN DE GRADO
“ALFA-SINUCLEÍNA COMO DIANA EN EL
DISEÑO DE NUEVOS FÁRMACOS”

Autor: Santiago Tébar Lara

Fecha: Junio 2019

Tutor: José Carlos Menéndez Ramos

ÍNDICE

| | |
|--|--------|
| 1. Resumen/Abstract..... | pag 3 |
| 2. Introducción y antecedentes..... | pag 3 |
| 2.1. Enfermedad del Parkinson..... | pag 4 |
| 2.2. Tratamiento farmacológico actual de la enfermedad..... | pag 4 |
| 3. Objetivos..... | pag 7 |
| 4. Metodología..... | pag 7 |
| 5. Resultados y discusión..... | pag 7 |
| 5.1. Estructura de la alfa-sinucleína..... | pag 7 |
| 5.2. Cuerpos de Lewy y conformaciones de la alfa-sinucleína..... | pag 9 |
| 5.3. Relación entre las enfermedades de Parkinson y Alzheimer..... | pag 12 |
| 5.4. Alfa-sinucleína como diana terapéutica..... | pag 13 |
| 5.4.1. Escualamina..... | pag 14 |
| 5.4.2. Ginsenosido Rb1..... | pag 15 |
| 5.4.3. Simvastatina..... | pag 15 |
| 5.4.4. ELN484228..... | pag 16 |
| 5.4.5. Curcumina..... | pag 17 |
| 5.4.6. Agonistas β 2-adrenérgicos..... | pag 17 |
| 5.4.7. Nilotinib..... | pag 17 |
| 5.4.8. Ceftriaxona..... | pag 18 |
| 5.4.9. N-butilidnftalida..... | pag 18 |
| 5.4.10. Inmunoterapia..... | pag 18 |
| 6. Conclusión..... | pag 19 |
| 7. Bibliografía..... | pag 19 |

1. RESUMEN/ABSTRACT

Resumen

A nivel molecular, el plegamiento de proteínas, la acumulación, la agregación y la subsiguiente formación de depósitos amiloides son características comunes en varios desórdenes neurológicos como la enfermedad del Parkinson, la enfermedad del Alzheimer, la demencia por Cuerpos de Lewy y la atrofia multisistémica. La naturaleza de la patología está determinada por el tipo de agregado proteico que se forma y de la localización de las células afectadas. Este trabajo se enfoca sobre la enfermedad del Parkinson, la cual está caracterizada patológicamente por la presencia de Cuerpos de Lewy (CL) y de Neuritas de Lewy (NL) en regiones subcorticales del cerebro, los cuales están compuestos por agregados y fibrillas de la proteína **alfa-sinucleína**¹. Así, la proteína se ha convertido en una diana potencial para el descubrimiento de nuevos fármacos frente a la enfermedad.

Abstract

At the molecular level, protein misfolding, accumulation, aggregation and subsequently the formation of amyloid deposits are common features in many neurological disorders including Parkinson's disease (PD) and Alzheimer's disease, dementia with Lewy bodies and multiple system atrophy. The nature of the pathology is determined by the type of the aggregated protein and the location of the cell affected. This work is approached on the PD, that is pathologically characterized by the presence of Lewy bodies and Lewy neurites in subcortical areas of the brain, which are composed of alpha-synuclein aggregates and fibrils. Thus, the protein converts on a potential target to the discover of new drugs to treat this disease.

2. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

Las enfermedades neurodegenerativas relacionadas con la edad como las enfermedades Alzheimer (EA) Parkinson (EP) tienen un papel importante en la actualidad tanto para los individuos como para la sociedad. La EA y la EP son las dos enfermedades neurodegenerativas más frecuentes (www.who.org). La etiología de ambas no se ha llegado a comprender con precisión, pero parece involucrar una combinación compleja de factores medioambientales y factores genéticos¹.

2.1. La enfermedad de Parkinson

La enfermedad de Parkinson (EP) fue descrita en el año 1817 por James Parkinson, bajo el nombre de “parálisis agitante”². Es una enfermedad neurológica idiopática, que se caracteriza por ser progresiva e irreversible, afectando a un 1% de la población de más de 65 años, aumentando hasta el 5% en los mayores de 85 años³.

La EP se caracteriza clínicamente, por un lado, por los conocidos como síntomas motores, entre los que se encuentran: bradicinesia, temblor en reposo, rigidez y alteración de los reflejos posturales, la cual puede desembocar en caídas frecuentes y fracturas. Además, encontramos síntomas con una presentación menos constante, conocidos como no motores, como son las alteraciones cognitivas como la demencia; alteraciones de la emotividad como la depresión; así como alteraciones en los ciclos de sueño y posible acatisia y dolor muscular².

En cuanto a la fisiopatología de la enfermedad, se produce una pérdida sustancial de dopamina en el núcleo estriado como resultado de una pérdida relativamente selectiva de neuronas dopaminérgicas de la Substantia Nigra Pars Compacta (SNPC)³. Numerosos estudios sugieren que alrededor de un 70% de la población neuronal dopaminérgica de esta región se ha perdido cuando comienzan a manifestarse los síntomas del parkinsonismo, progresando esta pérdida con el transcurso del tiempo²⁻⁴.

Un evento patológico que aparece junto a esta muerte celular, es la formación de cuerpos de Lewy y de neuritas de Lewy, los cuales son depósitos intracelulares de lípidos y proteínas⁴, siendo la mayoritaria la alfa-sinucleína. A pesar de esto, en el siglo XX existía cierto escepticismo a que existiese una etiología genética relacionada con la EP, aunque estas dudas fueron disipadas cuando se reportó que la mutación patogénica del gen SNCA, el gen que codifica la proteína alfa-sinucleína, estaba relacionada con la EP familiar³.

2.2. Tratamiento farmacológico actual de la enfermedad.

Al ser una enfermedad irreversible, las terapias farmacológicas están dirigidas a tratar los síntomas, no a su curación. “La restitución de la función dopaminérgica, mediante el aumento del contenido de dopamina o el estímulo adecuado de los receptores dopaminérgicos, es la base del tratamiento actual de la EP”².

- Levodopa

Inicialmente, se intentó restaurar la función dopaminérgica mediante la administración directa de dopamina, pero pronto se evidenció la falta de efecto debido a que esta no podía atravesar la barrera hematoencefálica, lo que dio paso a la utilización de su precursor, la L-dopa

o levodopa, un aminoácido que sí es capaz de atravesar dicha barrera. Esta es prácticamente inactiva, ejerciendo su efecto cuando se descarboxila a dopamina ya dentro del cerebro (figura 1)⁵, en las terminaciones nerviosas dopaminérgicas, desde donde se libera ejerciendo su efecto terapéutico. Tras su liberación, puede ser metabolizada tanto por la catecol-O-metiltransferasa (COMT) como por la monoaminoxidasa (MAO), o puede ser recaptada directamente.

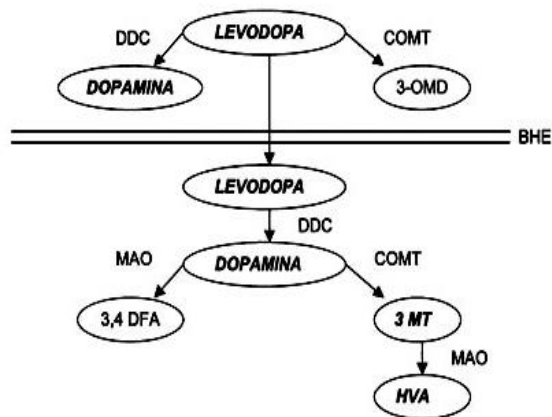


Figura 1⁵. Vías del metabolismo de la levodopa. DDC o LAAD: dopa descarboxilasa o L-aminoácido aromático descarboxilasa. COMT: catecol-O-metiltransferasa. BHE: barrera hematoencefálica. MAO: monoaminoxidasa. 3,4-DFA: ácido 3,4 dihidroxifenil acético. 3 MT: 3-metoxiti-ramina. HVA: ácido homovanílico.

Actualmente, es la terapia más efectiva para tratar la EP, pues al principio mejora los signos y síntomas. Sin embargo, cuánto más se prolonga el tratamiento, mayor es la aparición de efectos adversos (aunque algunos pueden aparecer desde el inicio del tratamiento), como hipotensión ortostática por estimulación dopaminérgica periférica, así como náuseas y vómitos por la estimulación de la zona quimiorreceptora bulbar. El problema se da en fases tardías, cuando pueden volver a aparecer los síntomas sin seguir ningún tipo de patrón, “alternando períodos de respuesta a la mediación y discinesias que pueden ser incapacitantes, con otros en los que la rigidez y el temblor no se controlan con el tratamiento”. Otros efectos adversos importantes son la confusión y las alucinaciones.

- Inhibidores de la enzima LAAD o DDC

Para disminuir el metabolismo de la L-dopa, favoreciendo su paso al SNC y evitar los efectos adversos derivados de la estimulación de receptores dopaminérgicos situados fuera del SNC, esta se suele administrar junto con inhibidores periféricos de la L-aminoácido aromático-decarboxilasa (LAAD). Esta administración se utiliza sobre todo para aumentar la biodisponibilidad de la levodopa, que en monoterapia es baja. Los inhibidores de LAAD más utilizados son la carbidopa y la benserazida, ambos incapaces de atravesar la BHE.

- Inhibidores de la enzima COMT

Volviendo a la figura 1, observamos que la dopamina puede ser metabolizada por la COMT, lo que provocaría una disminución de la semivida de esta, disminuyendo el efecto terapéutico.

Aquí, encontramos dos tipos de inhibidores, los periféricos como la entacapona, evitando el paso de levodopa a dopamina, ya que esta no puede atravesar la BHE; y los centrales como la tolcapona, que evita el paso de dopamina a 3-O-metil-dopa, lo que aumenta el tiempo de vida de la dopamina en el cerebro, y por tanto el efecto terapéutico, hasta el punto de que estos inhibidores “disminuyen en un 25 – 30% el tiempo de inmovilidad de pacientes con fluctuaciones”². La tolcapona ha acabado retirándose del mercado por resultar hepatotóxica⁶.

- Inhibidores de la enzima MAO B

La isoforma MAO B es la principal en el cerebro, especialmente en los ganglios basales. Al inhibir esta enzima, se está evitando el paso de dopamina a 3,4-DFA (figura 1), incrementando así los niveles de dopamina disponibles a nivel de sinapsis. Se ha evidenciado que pueden utilizarse como monoterapia en estadios tempranos de la EP, aunque su indicación normalmente es en combinación con levodopa para reducir las fluctuaciones motoras e incrementar el tiempo de vida de la dopamina en la hendidura sináptica⁷. En este grupo encontramos fármacos como la selegilina y la rasagilina. El primero, es un inhibidor selectivo de la MAO B, que “además de potenciar el efecto antiacinéutico de la levodopa, impide la captación de dopamina en las terminaciones nerviosas”².

- Agonistas dopaminérgicos

Son fármacos de origen sintético que ejercen su acción sobre alguno de los receptores de dopaminérgicos. Dentro de este grupo, se dividen a su vez en dos, los derivados no ergóticos como el ropirinol, pramipexol, rotigotina (el primero de administración transdérmica) y apomorfina; y los derivados ergóticos como la bromocriptina, cabergolina y la lisurida. Han tenido un impacto indiscutible en la calidad de vida de los pacientes con EP⁸, y su principal característica es que “su efectividad no está condicionada por la reserva funcional de las neuronas dopaminérgicas”².

- Fármacos anticolinérgicos

Su mecanismo de acción se basa en que las neuronas dopaminérgicas de la sustancia negra regulan la actividad de colinérgica de interneuronas estriatales. Esto significa que, si se da una hipofunción dopaminérgica como en la EP, se va a contrarrestar con una hiperfunción colinérgica. Por tanto, lo que se busca con los anticolinérgicos es contrarrestar esa hiperfunción. Entre ellos encontramos el biperideno, la prociclidina y trihexifenidilo. Su indicación principal es para la EP con temblor grave, de carácter bilateral y en personas jóvenes². Actualmente su uso ha disminuido, debido a sus efectos adversos como confusión, trastorno cognitivo, enlentecimiento intestinal (que podría afectar a la absorción de la levodopa) y amnesia.

3. OBJETIVOS

Conocer con detalle la estructura de la proteína alfa-sinucleína, así como sus funciones fisiológicas y sus mecanismos de acción y degradación, además de recopilar información sobre la formación de agregados tóxicos por parte de esta proteína, que se han ligado directamente a la aparición de algunos tipos de parkinsonismo. Por último, se ha reunido información sobre los últimos avances en investigación dirigidos a evitar la formación de estos agregados tóxicos, así como diferentes terapias que utilizan la alfa-sinucleína como diana terapéutica.

4. METODOLOGÍA

Para realizar este trabajo bibliográfico, se ha realizado una búsqueda a través de diferentes bases de datos científicas como PubMed, Scielo y Sciencedirect, además de diferentes artículos científicos de fiabilidad confirmada. Además, se ha utilizado contenido de diferentes libros sobre fisiopatología y farmacología, para respaldar dichos artículos. Para realizar la búsqueda en las bases de datos, se han utilizado palabras clave como: “parkinson’s disease”, “parkinson’s disease treatment”, “Alpha-synuclein toxicity”, “Alpha synuclein aggregates”, “Alpha synuclein target”.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La acumulación de alfa-sinucleína es la marca distintiva de las sinucleopatías, entre las que encontramos la enfermedad de Parkinson, demencia con cuerpos de Lewy y atrofia multisistémica. Los avances recientes ofrecen nuevos enfoques en terapéutica como nuevos compuestos en fases clínicas, anticuerpos, vacunas, oligonucleótidos antisentido y moléculas de pequeño tamaño que surgen como opciones para reducir los niveles de esta proteína, así como la formación de agregados en el cerebro de los pacientes⁹. En este trabajo, se exponen algunas de estas nuevas y prometedoras terapias.

5.1. Estructura de la alfa-sinucleína

En humanos, la alfa-sinucleína es un miembro de una familia de tres proteínas: la alfa-sinucleína, la beta-sinucleína y la gamma sinucleína¹⁰. La alfa y beta-sinucleína tienen un 61% de su secuencia aminoacídica idéntica, y algunos estudios afirman que esta última podría tener la capacidad de regular el estado de agregación proteico de la alfa-sinucleína bajo condiciones patológicas¹¹.

La alfa-sinucleína es una pequeña proteína codificada por el gen SNCA localizado en el brazo largo del cromosoma 4¹², que consta de 140 aminoácidos (a diferencia de la beta que consta de 134), que se dividen a su vez en tres dominios: la región amino-terminal que está cargada positivamente, y comprende los aminoácidos desde el número 1 al 61; el segmento hidrofóbico central o componente no amiloideo (NAC), que abarca desde el aminoácido 61 al 95; y el extremo carboxílico, que está cargado negativamente y comprende desde el aminoácido 96 hasta el final¹⁰. Es importante destacar la presencia de mutaciones puntuales en el dominio N-terminal de la proteína, como A53E, A53T, H50Q, G51D, E46K y A30P, las cuáles se ha demostrado que resultan en enfermedad del parkinson familiar dominante autosómica y síndromes parkinsonianos, causados por el plegamiento y la agregación de la proteína mutante¹³.

Aproximadamente la mitad de la proteína (del residuo 7 al 87) está formada por siete repeticiones imperfectas de once aminoácidos, y cada una de ellas tiene una secuencia central conservada formada por la secuencia KTKEGV. Estas secuencias centrales están separadas por cinco aminoácidos, con la excepción de la repetición 4 y la 5, que se encuentran separadas por nueve aminoácidos (figura 2). Dichas secuencias se han asociado a la función de fijación lipídica que posee la proteína¹³.

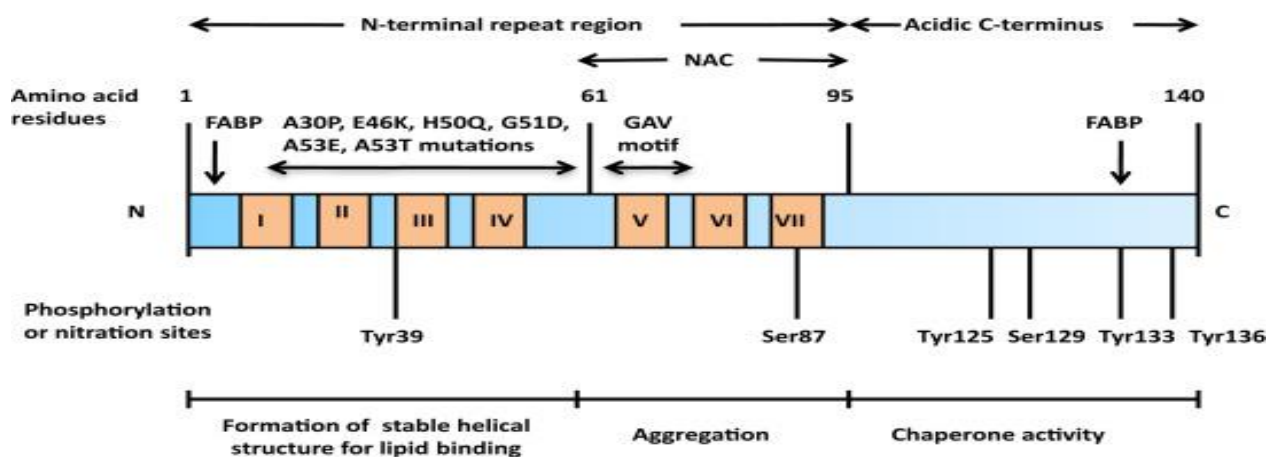


Figura 2. Se muestran las diferentes regiones de la proteína alfa-sinucleína. A la izquierda, la región N-terminal, que está involucrada en la interacción entre la proteína y diferentes lípidos; en el centro, la región NAC o hidrofóbica que es esencial para la formación de agregados tóxicos; y a la derecha la región C-terminal, que exhibe actividad de chaperona, donde se muestran además los sitios de fosforilación y nitración responsables de las mutaciones familiares⁹.

La proteína se encuentra abundantemente expresada en el cerebro, principalmente en las terminaciones nerviosas presinápticas¹². Estudios recientes muestran que la alfa-sinucleína se ve involucrada en diferentes funciones fisiológicas como la compartimentación, almacenamiento, tráfico y específicamente, en el reciclado de vesículas sinápticas y neurotransmisores¹⁴. Además, la alfa-sinucleína está asociada con procesos de regulación fisiológica de ciertas enzimas y se cree que puede incrementar el número de moléculas transportadoras de dopamina¹⁰.

La alfa-sinucleína es degradada tanto por el sistema ubiquitina-proteasoma (UPS) como por la vía de autofagia-lisosomal. El hecho de que la proteína pueda encontrarse en distintas conformaciones, hizo posible evidenciar que la alfa-sinucleína soluble normal es degradada principalmente por el UPS, mientras que las conformaciones más complejas, incluyendo agregados, son degradadas por la vía autofágica lisosomal¹⁰.

5.2. Cuerpos de Lewy y conformaciones de la alfa-sinucleína

Los cuerpos de Lewy (CL) son agregados intraneuronales anormales de proteínas, que aparecen como masas esféricas que desplazan al resto de componentes celulares¹⁵. Estos cuerpos, no solo están formados por la alfa-sinucleína, que ciertamente es el componente estructural principal, sino que presentan otras proteínas como la parkina o la ubiquitina, además de neurofilamentos. Se conocen dos tipos de CL diferentes: la forma clásica, de origen eosinofílico, con un centro denso del que emanan fibrillas que alcanzan los 10 nm de diámetro; y la forma cortical, cuya composición proteica es la misma, pero tiene una densidad mayor y carece de halo fibrilar¹⁵. Además, existen también las neuritas de Lewy (NL), que son formaciones proteináceas similares a los CL, y se sitúan en el neuropilo, una región en la sustancia gris que comprende las prolongaciones neuronales (axones y dendritas) y las prolongaciones gliales que las envuelven.

La formación de los CL se desarrolla a partir de agregados proteináceos anormales de alfa-sinucleína, proceso desarrollado progresivamente a lo largo de las siguientes etapas (figura 3):

- Aparición de monómeros de alfa-sinucleína en disposición beta-helicoidal, también conocidos como protofibrillas.
- Formación de oligómeros de las protofibrillas.
- Formación de fibrillas amieloides.
- Agregación de las fibrillas en forma de cuerpo de Lewy.

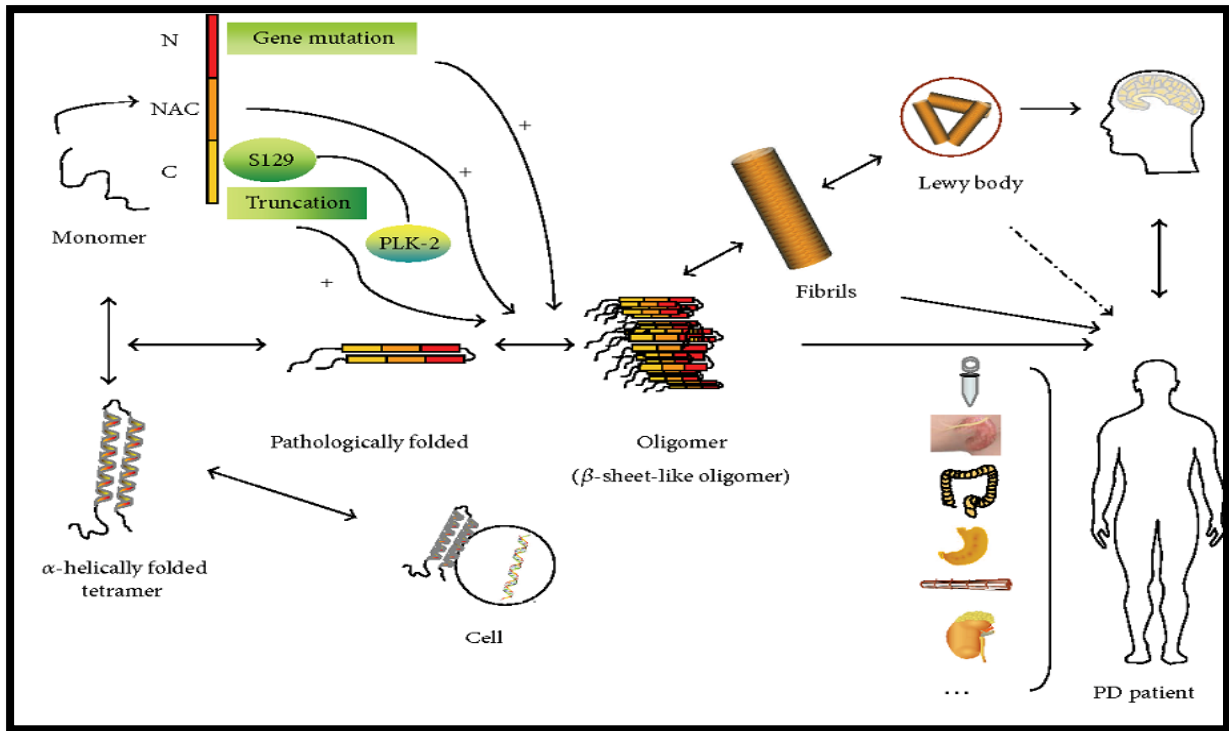


Figura 3¹⁶. Diferentes conformaciones en las que se observan la alfa-sinucleína y las distintas etapas de formación de los Cuerpos de Lewy (CL). Arriba a la izquierda, se observan factores que favorecen el proceso de formación de los CL.

La alfa sinucleína existe en varias conformaciones en equilibrio dinámico (figura 3), el cual está modulado por varios factores que pueden ser internos y externos, ya sea inhibiendo o favoreciendo la fibrilación¹⁰. Así, la proteína es capaz de realizar una transición natural entre sus posibles conformaciones, incluyendo a los monómeros, tetrámeros, oligómeros solubles, fibrillas insolubles caracterizadas por una conformación de lámina beta y agregados que finalmente darán lugar a los CL. Estudios demostraron que la alfa-sinucleína existe de forma nativa como monómero, y otros estudios utilizaron alfa-sinucleína purificada y analizada en células de mamíferos para demostrar un estado monomérico compacto para la proteína, que ayuda a proteger región NAC de la agregación espontánea. Además, se ha observado que la proteína existe como conformeros metaestables y monómeros estables, así como tetrámeros mediados por las repeticiones KTKEGV. Las mutaciones de la proteína vinculadas con la PD, incluyendo A53T, E46K y H50Q, disminuyen la conformación tetramérica y aumentan la monomérica, lo que estimula la producción de oligómeros y agregados insolubles, sugiriendo que la conformación del monómero desplegado puede ser una fuente de toxicidad por parte de la proteína. Así, estas son las formas fisiológicas en las que se puede presentar la proteína¹⁶.

Múltiples estudios han examinado los factores que promueven el inicio de la oligomerización, comenzando con la formación de conformaciones tóxicas. Los ácidos grasos poliinsaturados incrementan los niveles de oligómeros de alfa-sinucleína, mientras que los saturados los disminuyen. Adicionalmente, una baja cantidad de lípidos cargados negativamente, ambientes levemente ácidos como endosomas y liposomas, así como vesículas lipídicas promueven la oligomerización. Tras la formación, los oligómeros de alfa-sinucleína experimentan cambios conformacionales para volverse oligómeros más compactos y estables, que son resistentes a la proteinasa-k, induciendo un estrés oxidativo mayor, antes de convertirse en fibrillas¹⁶.

La agregación de la proteína en los CL puede ser de dos tipos: covalente oxidativa y no covalente. En la agregación no covalente se observan fibrillas de alfa-sinucleína como bastones de 5 – 10 nm de diámetro, que además son insolubles y presentan una estructura betahelicoidal. “En la agregación covalente se forman uniones cruzadas principalmente entre los residuos de tirosina de las moléculas. El estrés oxidativo juega un papel fundamental en la formación covalente de enlaces cruzados, así como metales como el hierro que aceleran la formación de fibrillas amiloides”¹⁵.

En la agregación covalente se produce un aumento del estrés oxidativo que da lugar a modificaciones de la alfa-sinucleína favoreciendo su agregación. Este estrés es una situación en la que los mecanismos antioxidantes son incapaces de eliminar las especies reactivas de oxígeno (ERO) o de nitrógeno (ERN), ya sea por defecto de los antioxidantes o por exceso de producción de estas especies reactivas. En el caso del estrés por peróxido de hidrógeno (H₂O₂), se produce dicha agregación covalente. Este tipo de estrés se da en el interior de la mitocondria de las neuronas, a nivel de la cadena de citocromos, y ocurre debido a un exceso de ión superóxido, que mediante la enzima superóxido dismutasa (SOD) pasa a H₂O₂. Aquí, los cambios estructurales de la proteína se deben a los residuos de tirosina (Y), donde encontramos el residuo Y39 que participa en el comienzo de la formación de fibrillas, mientras que los residuos de tirosina del extremo C-terminal (Y125, Y133 e Y139) están relacionados con la agregación final en forma de cuerpos de Lewy. En el caso del estrés nitrosativo, se produce una nitrosilación de los residuos de tirosina, produciéndose proteínas 3-nitrotirosinadas. En la EP, se han encontrado residuos de tirosina nitrados en los neurofilamentos y la alfa-sinucleína de los CL. Esto, permitió conocer que la nitrosilación en el residuo Y39 provoca una unión reducida de la alfa-sinucleína a vesículas, y una disminución en su degradación proteica, mientras que la nitrosilación en Y125/Y136 aumenta la agregación de la alfa-sinucleína.

En la agregación no covalente hay que destacar el importante papel de la región no hidrofóbica (NAC) de la proteína para la formación de agregados, así como que la dopamina y sus metabolitos facilitan la agregación de la alfa-sinucleína, relacionándose con la especial vulnerabilidad de las neuronas dopaminérgicas en la EP. Además, el exceso de la proteína afecta a los complejos I y IV de las mitocondrias, alterando la función mitocondrial, dando lugar a una retroalimentación positiva debido a la excesiva formación de EROs, cuyo efecto oxidativo favorece la agregación covalente de la proteína, provocando a su vez un mayor daño mitocondrial. Por otro lado, la estructura normal del citoesqueleto neuronal se ve afectada por los agregados de alfa-sinucleína, reduciéndose la polimerización de la tubulina, sobre la que también actúa directamente el segmento hidrofóbico (NAC) de la proteína alterando dicha capacidad para polimerizar. Además, cuando se encuentran defectos en la enzima LRRK2, se produce un aumento de la desestabilización de la red microtubular, y una mayor formación de neuritas de Lewy y retracción neurítica. Por último, es importante mencionar que la proteína en los cuerpos de Lewy se encuentra fosforilada en el residuo de serina 129, lo que favorece la agregación¹⁵.

5.3. Relación entre las enfermedades de Parkinson y Alzheimer.

La acumulación de agregados de alfa-sinucleína es un marcador anatomopatológico de la EP, mientras que los agregados de la proteína tau se encuentran normalmente en los pacientes con demencia, una característica neuropatológica que caracteriza las taupatías. Sin embargo, numerosos casos con inclusiones positivas de alfa-sinucleína también fueron descritas en taupatías y viceversa, sugiriendo una coexistencia entre ambas proteinopatías. Ambas son proteínas parcialmente desplegadas que pueden formar oligómeros tóxicos y agregados intracelulares anormales bajo condiciones patológicas. Además, las proteínas tau y alfa-sinucleína parecen promover la fibrilación y cambio de solubilidad la una de la otra, sugiriendo que las interacciones entre ambas forman un bucle de retroalimentación positiva esencial para el desarrollo y la propagación de la neurodegeneración.

Varios estudios intentaron identificar que regiones de las dos proteínas eran las que permitían la interacción entre ambas. Usando la fragmentación de proteínas y péptidos recombinantes, se encontró que los dominios que interactuaban estaban localizados en el extremo C-terminal de la alfa-sinucleína y la región de unión a los microtúbulos de la tau. A esto se añadió posteriormente, que ni el fragmento C-terminal ni el N-terminal de la proteína

tau participaban en la interacción con la alfa-sinucleína. Por otro lado, se identificó que la fosforilación del residuo de serina 214 de tau incrementaba la unión de alfa-sinucleína.

La principal diferencia entre tau y la alfa-sinucleína es que la segunda tiene tendencia a autoagregarse, mientras que la primera no tiene la capacidad de autoagregarse, necesitando de un agente inductor. Se demostró que tau acelera la agregación de la alfa-sinucleína y que esta última puede actuar como un agente inductor de la polimerización de tau a través de su región hidrofóbica NAC, aunque, por el contrario, tau cambió el patrón de agregación de la alfa-sinucleína promoviendo la formación de pequeñas inclusiones en modelos celulares.

La superposición y numerosas similitudes entre las sinucleopatías y las taupatías sugieren que las estrategias terapéuticas podrían tener como diana los procesos comunes de agregación de ambas proteínas, lo que podría beneficiar a los pacientes a través de un amplio espectro de desórdenes neurodegenerativos, y estas estrategias podrían ser especialmente relevantes en el tratamiento de síntomas secundarios como el deterioro cognitivo en la EP o parkinsonismo secundario en demencia. Los estudios sugieren que es más plausible que la alfa-sinucleína sea un inductor de taupatías que el escenario opuesto¹.

5.4. Alfa-sinucleína como diana terapéutica.

El hecho de que no haya una cura para la EP, sino que el tratamiento esté enfocado en paliar los síntomas y mejorar la calidad de vida del paciente, ha provocado que aumente el desarrollo de moléculas que puedan detener la progresión de la EP.

De acuerdo a la sugerencia de que la alfa-sinucleína patológica se propaga gradualmente a través del sistema nervioso siguiendo un patrón estereotípico y el descubrimiento de que las formas agregadas de la proteína pueden propagarse de una célula a otra (hipótesis de propagación de neurona en neurona en forma de prión), y que de este modo probablemente se agraven los déficits existentes así como que se generen síntomas adicionales, la idea de que la α -sinucleína pueda ser una nueva diana terapéutica ha obtenido numerosos apoyos¹⁴.

Como consecuencia, se han descrito varias etapas en el ciclo de vida de la proteína sobre las que se puede actuar a nivel terapéutico, de modo que, en modelos de ratones con parkinsonismo inducido, se ha tratado de intervenir en diferentes rutas en las que está involucrada la alfa-sinucleína. Estas etapas son las siguientes (figura 4):

- 1) Reducción de la síntesis endógena de alfa-sinucleína mediante el uso de ARN pequeño de interferencia (siRNA) dirigido contra el ARN mensajero de la alfa-sinucleína.
- 2) Inhibir la agregación de la alfa-sinucleína dentro de las células.

- 3) Promover la degradación de alfa-sinucleína dentro de las células.
- 4) Promover la degradación de alfa-sinucleína fuera de las células.
- 5) Reducir el consumo de alfa-sinucleína en el espacio extracelular por células vecinas, de la proteína tóxica liberada por células afectadas.

Además, hay que tener en cuenta la inmunoterapia o inmunización activa contra la alfa-sinucleína, que parece haber cosechado resultados interesantes. Algunas de estas moléculas y nuevas terapias se exponen a continuación.

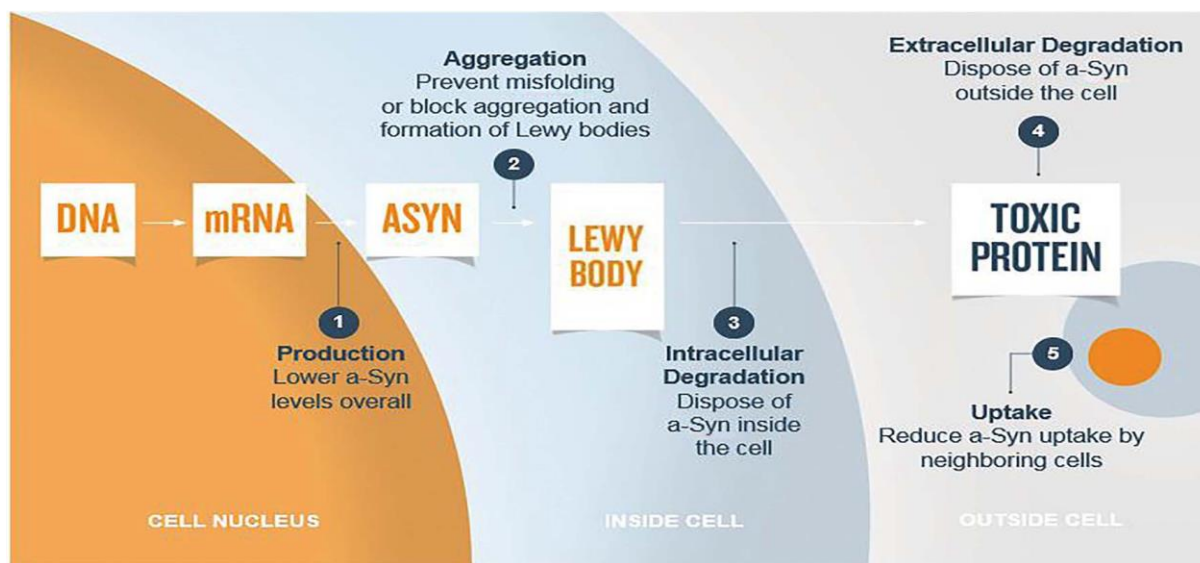


Figura 4. Vista esquemática de una neurona y su espacio extracelular adyacente, en la que se ilustran las 5 diferentes vías principales en las que la alfa-sinucleína podría ser utilizada como diana terapéutica, cuando se intenta reducir la neurodegeneración debida a la alfa-sinucleína mal plegada¹⁴.

5.4.1. Escualamina

Es un aminosterol antimicrobiano descubierto en 1993 en tejidos de la especie *Squalus acanthias*, que tiene también actividad farmacológica sobre células endoteliales inhibiendo vías

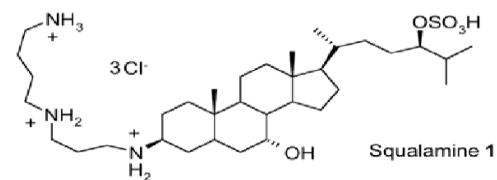


Figura 5. Estructura escualamina.

dependientes de factores de crecimiento que han hecho que el fármaco emerja como candidato al tratamiento del cáncer y la degeneración macular¹⁷. Se demostró que tiene un efecto específico contra la agregación de alfa-sinucleína, y se propuso un modelo de unión competitivo donde la escualamina y los oligómeros tóxicos de la alfa-sinucleína compiten por los sitios de unión en la superficie de vesículas y neuronas. El mecanismo se sustenta sobre su carga positiva, que neutraliza la carga negativa de

los fosfolípidos aniónicos, resultando en un desplazamiento de proteínas encontradas en la cara interna de la membrana citoplasmática a través de interacciones electrostáticas¹⁸. Esta interacción con las vesículas lipídicas por parte del compuesto, va seguida por el desplazamiento de la alfa-sinucleína de la superficie de estas vesículas, bloqueando de este modo los primeros pasos del proceso de agregación¹⁷. Este potencial terapéutico ha postulado a la escualamina como un interesante agente terapéutico para tratar la EP, así como otras condiciones asociadas con la agregación de la alfa-sinucleína.

5.4.2. Ginsenosido Rb1

Se ha mostrado que el ginsenosido Rb1, compuesto activo principal de la planta *Panax ginseng*, protege a las neuronas dopaminérgicas de la muerte celular y que inhibe la fibrilación de la alfa-sinucleína y su toxicidad in vitro. Además, se reveló que el ginsenosido Rb1 mejora los déficits motores y previene la muerte celular dopaminérgica regulando el transportador GLT-1 de glutamato en modelos de ratones con parkinsonismo inducido por el 1-metil-4-fenil-1,2,3,6- tetrahidropiridina (MPTP)¹⁹.

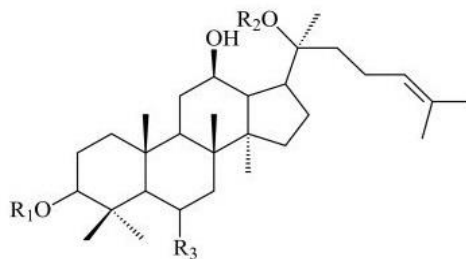


Figura 6. Estructura del Ginsenosido Rb1.

En este mismo estudio¹⁹, se muestra el rol del ginsenosido Rb1 en la mejora del deterioro cognitivo en la enfermedad de Parkinson, que involucra el aprendizaje espacial y la memoria. Se demostró que el Rb1 mejoraba el aprendizaje espacial y los déficits de memoria por la vía hipocampal trans-sináptica alfa-sinucleína/PSD-95 en ratones tratados con MPTP.

Por tanto, este fármaco podría tener una importante proyección en el tratamiento de la enfermedad del Parkinson ya que podría ayudar a favorecer el curso de los deterioros cognitivos, un síntoma no-motor de gran importancia en la enfermedad.

5.4.3. Simvastatina

La simvastatina es un fármaco perteneciente al grupo de las estatinas, que son ampliamente utilizadas para reducir el riesgo cardiovascular debido a su acción hipocolesterolemia, actuando como inhibidores competitivos de la enzima hidroximetilglutaril-CoA reductasa (HMG-CoA reductasa).

Varios estudios de laboratorio demostraron múltiples efectos bioquímicos neuroprotectores de las estatinas en modelos de la enfermedad de Parkinson. La simvastatina es una de las estatinas que mejor cruza la barrera hematoencefálica (BHE), debido a la lipofilia de la molécula. Además de su uso farmacéutico como hipocolesterolemizante, las estatinas muestran efectos neuroprotectores como, por ejemplo, que previene la nitración de residuos de tirosina y la depleción de la

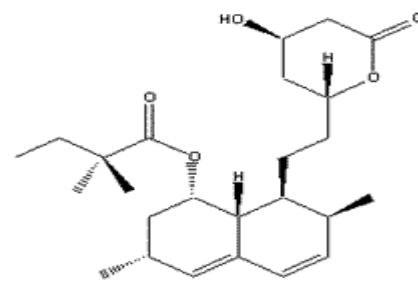


Figura 7. Simvastatina.

dopamina estriatal en ratones con parkinsonismo inducido por MPTP²⁰. El mecanismo de acción que se planteó comienza con la entrada de la simvastatina en la sustancia nigra (puesto que atraviesa la BHE), inhibiendo la activación de la proteína p21(ras), suprimiendo la activación de NF-B, lo que a su vez atenúa la expresión de moléculas proinflamatorias, protegiendo las neuronas dopaminérgicas, restaurando las fibras estriatales, y mejorando la función locomotora en ratones inducidos por MPTP.

Se postula que la simvastatina, además, puede aumentar la supervivencia neuronal dopaminérgica por las siguientes vías: atenuación de la agregación de α -sinucleína; inhibición del estrés oxidativo; suprimiendo moléculas proinflamatorias y la activación microglial; y estimulando la óxido nítrico sintasa endotelial²⁰. Por tanto, se cree que estos mecanismos de acción colesterol-independientes de la simvastatina podrían beneficiar a pacientes con enfermedades neurodegenerativas en un futuro.

5.4.4. ELN484228

El compuesto ELN484228 es una bencenosulfonamida que tiene como diana la alfa-sinucleína. Se descubrió que este compuesto revierte la discapacidad para realizar correctamente la fagocitosis inducida por la alfa-sinucleína y que protege a las neuronas dopaminérgicas contra los efectos tóxicos de la sobreexpresión de la mutación A53T. Esta pequeña molécula altera el transporte de la alfa-sinucleína y mejora la discapacidad en la dinámica vesicular causada por la alfa-sinucleína, dinámica envuelta en la fagocitosis. Además, esta molécula actúa mejorando la retracción neurítica²¹.

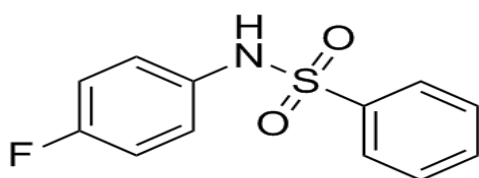


Figura 8. Compuesto ELN484228.

5.4.5. Curcumina

La curcumina es un polifenol bien que es el principal componente de la cúrcuma, ampliamente utilizada en Asia como condimento alimentario y que exhibió actividades antiinflamatorias, antimicrobianas y anticarcinogénicas.

La agregación de la alfa-sinucleína ocurre como resultado de un incremento del estrés oxidativo, así como por la neuroinflamación en la enfermedad del Parkinson. El estrés oxidativo producido durante la EP, es consecuencia de la producción de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) debida a la oxidación de la dopamina; la activación de la enzima NADPH oxidasa y la óxido nítrico sintasa (iNOS); la liberación o acumulación de hierro y la depleción de glutatión (GSH). La curcumina medió su efecto inhibitorio sobre la agregación de la alfa-sinucleína mediante la inhibición de la generación de estrés oxidativo, reabasteciendo los niveles de glutatión y previniendo la respuesta inflamatoria glial²².

Además, debido a su bajo coste, su habilidad para atravesar la barrera hematoencefálica y su seguridad farmacológica evidenciada por varios estudios preclínicos, se ha sugerido el potencial terapéutico que podría tener la curcumina en diferentes trastornos neurológicos.

5.4.6. Agonistas β_2 -Adrenérgicos

Se descubrió que el receptor β_2 -adrenérgico es un regulador del gen SNCA, que codifica la alfa-sinucleína. Los ligandos de este receptor modulan la transcripción del gen SNCA acetilando sus promotores y sus potenciadores. Este estudio, que duró 11 años, sugiere que el agonista del receptor β_2 -adrenérgico, el salbutamol, un fármaco indicado para el tratamiento del asma, se asoció con el riesgo reducido de desarrollar la EP. Por el contrario, los antagonistas se asociaron con un aumento de ese riesgo. Además, la activación del receptor demostró protección contra ese riesgo en ratones y células derivadas de pacientes. Así, al estar el receptor unido a la transcripción de la alfa-sinucleína, constituye una diana potencial para futuras terapias²³.

5.4.7. Nilotinib

Es un compuesto inhibidor de la enzima tirosina quinasa. Se demostró que a bajas dosis penetra en la barrera hematoencefálica y degrada α -sinucleína mal plegada vía autofagia. Este, penetra en el cerebro e inhibe Ab1, permitiendo la reducción del estrés

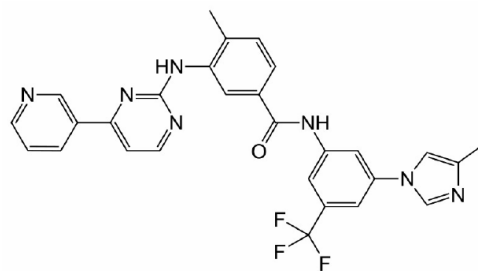


Figura 9. Molécula de Nilotinib.

oxidativo y la protección de neuronas dopaminérgicas, además de que mejora las funciones motoras y cognitivas²⁴.

5.4.8. Ceftriaxona

Es un antibiótico beta-lactámico que ha sido usado durante años como antimicrobiano. Se ha sugerido la unión de la ceftriaxona a la alfa-sinucleína por una región de esta involucrada en la formación de fibrillas amiloides. Algunos residuos presentes en el extremo C-terminal, como Tyr125, Tyr133 y Tyr 136 juegan un papel crucial en la formación de fibrillas. Por tanto, la ceftriaxona actuaría como inhibidor afectando a la agregación de la alfa-sinucleína y previniendo la acumulación intracelular de la proteína mal plegada. Además, se ha estudiado su efecto protector en células PC12 expuestas a 6-hidroxidopamina, un compuesto tóxico. Las PC12 son células catecolaminérgicas utilizadas en modelos in vitro de la EP²⁵.

5.4.9. N-butilidenftalida

Los datos muestran que la N-butilidenftalida reduce la neurodegeneración dopaminérgica y disminuye la acumulación de α -sinucleína en modelos transgénicos de *Caenorhabditis elegans*. Recientemente, se ha demostrado que este compuesto posee actividad antioxidante por activación la vía del Nrf2, protegiendo así contra el estrés oxidativo, disminuyendo la acumulación de agregados tóxicos de alfa-sinucleína, debido a que dicho factor media la expresión de genes con actividad antioxidante.

5.4.10. Inmunoterapia

La síntesis de anticuerpos contra la α -sinucleína resultó en una reducción de la agregación de la proteína y de la pérdida sináptica en ratones transgénicos. Anticuerpos monoclonales dirigidos contra el extremo C-terminal de la proteína atenuó la patología sináptica y axonal, reduciendo la acumulación de α -sinucleína truncada en este extremo en los axones, rescatando la pérdida de tirosina hidroxilasa en el núcleo estriado, mejorando los déficits motores y de memoria²⁷. Compuestos similares a este se encuentran en diferentes fases de ensayos clínicos.

Los laboratorios Roche y Biogen están desarrollando anticuerpos específicos contra la alfa-sinucleína, RO7046015 y BIIB054 respectivamente, que se encuentran en la fase II de ensayos clínicos. El primero, redujo la neurodegeneración y la propagación de la alfa-sinucleína en ratones transgénicos con EP en ensayos preclínicos, y además se demostró que era bien tolerada por los pacientes con EP²⁸.

Affiris está desarrollando dos vacunas candidatas contra la alfa-sinucleína, PD01A y PD03A. Ambas estimulan al sistema inmune a crear sus propios anticuerpos, que preferencialmente se unen a las fibrillas de alfa-sinucleína, pero solo en la PD01A se reportó que se generaran anticuerpos séricos contra la alfa-sinucleína²⁸.

Neuropore therapies y UCB están desarrollando un pequeño péptido inhibidor del plegamiento de la alfa-sinucleína que se encuentra en fase I, y que en ratones disminuyó la neurodegeneración y mejoró el rendimiento motor. Un pequeño péptido similar, pero de Proclara Biosciences, el NPT088, está en fase preclínica, y parece unirse a agregados amieloides incluyendo especies tóxicas de alfa-sinucleína.

Sanofi Genzyme desarrolló SAR402671, actualmente en fase II, una pequeña molécula que inhibe el metabolismo de los glucoesfingolípidos, reduciendo la agregación de la proteína.

6. Conclusión

Los esfuerzos por mejorar los tratamientos disponibles para las enfermedades neurodegenerativas se están viendo frenados por la difícil comprensión y etiología de dichas enfermedades.

El hecho de que se descubriese que la proteína alfa-sinucleína es una de las principales causas de algunas de las formas de la enfermedad de Parkinson ha permitido que comiencen a desarrollarse compuestos dirigidos contra esta molécula, actuando sobre diferentes etapas del metabolismo de la misma. Los nuevos enfoques que se están dando en investigación sobre el uso de esta proteína como nueva diana terapéutica parecen ser muy prometedores, pues se está abriendo un amplio abanico terapéutico de compuestos que ya han demostrado resultados positivos en pacientes con la enfermedad de Parkinson o en modelos animales, y que, de llegar a comercializarse, podrían ser muy útiles para ayudar a frenar el desarrollo de esta enfermedad neurodegenerativa en un futuro.

7. Bibliografía

1. Moussaud, S., Jones, D., Moussaud-Lamodièrè., Delenclos, M., Ross, O., McLean, P. (2014). *Alpha-synuclein and tau: teammates in neurodegeneration?*. *Mol. Neurodegener*, 9, 43.
2. Lorenzo, P., Moreno, A., Lizasoain, I., Leza, J.C., Moro, M.A., Portoles, A. *Farmacología básica y clínica*. 18ª edición. Madrid: Panamericana. 2018.
3. Lee, V. M. Y., & Trojanowski, J. Q. (2006). *Mechanisms of Parkinson's disease linked to pathological α -synuclein: new targets for drug discovery*. *Neuron*, 52, 33-38
4. Cookson, M. R. (2009). *α -Synuclein and neuronal cell death*. *Mol. Neurodegener*, 4,9.
5. Juri, C., Chaná, P., *Levodopa for Parkinson's disease. What have we learned?*. *Rev. Médica Chile* 2006; 893 - 901

6. Di Giovanni, S., Eleuteri, S., Paleologou, K. E., Yin, G., Zweckstetter, M., & Lashuel, H. A. (2010). *Entacapone and tolcapone, two catechol O-methyltransferase inhibitors, block fibril formation of α -synuclein and β -amyloid and protect against amyloid-induced toxicity*. JBC, 285, 14941-14954.
7. Menéndez-González, M., Castro-Santos, P., Suazo Galdames, I. C., Díaz-Peña, R. (2016) *Pharmacogenetics in Parkinson's disease: Influence of Genetic Polymorphisms on the Effects of Dopaminergic Therapy*. Vol 12, No 3:9.
8. Alonso Cánovas, A., Luquin Piudo, A., García-Ruiz Espiga, P., Burguera, J.A., Campos Arillo, V., Castro, A., Lizanosoro, G., López del Val, J., Vela, L., Martínez Castrillo, J. C. (2014) *Dopaminergic agonists in Parkinson's disease*. Vol. 29, No 4, 139 – 256.
9. Mochizuki, H., Choong, C., Masliah, E. (2018) *A refined concept: α -synuclein dysregulation disease*. Vol. 118, 84 – 96.
10. Xu, L., Pu, J. (2016) *Alpha-synuclein in Parkinson's disease: From pathogenetic dysfunction to potential clinical application*.
11. Hasihomoto, M., Rockenstein, E., Mante, M., Mallory, M., Masliah, E. (2001) *β -synuclein inhibits α -synuclein aggregation: A posible role as an antiparkinsonian factor*. Vol 32, issue 2, 213 – 223.
12. Masuda, M., Suzuki, N., Taniguchi, S., Oikawa, T., Nonaka, T., Iwatsubo, T., Hisanaga, S., Goedert, M., Hasegawa, M. (2006) *Small molecule inhibitors of α -synuclein filament assembly*.
13. Goedert, M., Jakes, R., Grazia Spillantini, M., (2017) *The synucleinopathies: Twenty years on*.
14. Brundin, P., Dave, K., Kordower, J. (2017) *Therapeutic approaches to target α -synuclein pathology*.
15. Fernández Espejo, E. (2013) *Agregación de la alfa-sinucleína y degeneración parkinsoniana*.
16. C Wong, I., Krainc, D. (2017) *α -synuclein toxicity in neurodegeneration: mechanism and therapeutic strategies*. Vol 2, 1-13.
17. Perni, M., Galvagnion, C., Maltsev, A., Meisl, G., et al. (2017). *A natural product inhibits the initiation of α -synuclein aggregation and suppresses its toxicity*. PNAS, 114, E1009-E1017.
18. Pineda, A., & Burré, J. (2017). *Modulating membrane binding of α -synuclein as a therapeutic strategy*. PNAS, 114, 1223-1225.
19. Qu, S., Meng, X., Liu, Y., Zhang, X., Zhang, Y. (2019) *Ginsenoside Rb1 prevents MPTP-induced changes in hippocampal memory via regulation of the α -synuclein/PSD-95 pathway*. AGING, 1934 – 1964.
20. Carroll, C., K H Wise, R. (2017) *Simvastatin as a potencial disease-modifying therapy for patients with Parkinson's disease: Rationale for clinical trial, and current progress*.
21. Tóth, G., Gardai, S. J., Zago, W., Bertocini, C. W., Cremades, N., et al. (2014). *Targeting the intrinsically disordered structural ensemble of α -synuclein by small molecules as a potential therapeutic strategy for Parkinson's disease*. PLoS One, 9.
22. Sharma, N., Nehru, B., (2017) *Curcumin affords neuroprotection and inhibits α -synuclein aggregation in lipopolysaccharide-induced Parkinson's disease model*.
23. Mittal, S., Bjørnevik, K., Im, D. S., Flierl, A., Dong, X., J Locascio, J., et al. (2017). *β 2-Adrenoreceptor is a regulator of the α -synuclein gene driving risk of Parkinson's disease*. Science, 357, 891-898.
24. Pagan, F., Hebron, M., H Valadez, E., Torres-Yaghi, Y., et al. (2016) *Nilotinib effects in Parkinson's disease and dementia with lewy bodies*. Journal of Parkinson's disease.
25. Ruzza, P., Siligardi, G., Hussain, R., et al 2014) *Ceftriaxone blocks the polymerization of α -synuclein and exerts neuroprotective effects in vitro*. ACS chemical neuro, 30 – 38.
26. Fu, R., Harn, H., Liu, S., Chen, C., Chang, W., et al (2014) *n-butylidenephthalide protects against dopaminergic neuron degeneration and α -synuclein accumulation in Caenorhabditis elegans models of Parkinson's disease*. Plos one.
27. Kam Yin Chan, D., Hua Xu, Y., Kar Mar Chan, L., Braid, N., D Mellick, G. (2017) *Mini-review on initiatives to interfere with the propagation and clearance of Alpha-synuclein in Parkinson's disease*. Translational neurodegeneration, 6:33.
28. Kingwell, K. (2017) *Zeroign in on neurodegenerative α -synuclein*. Nature Reviews Drug Discovery, 371 – 373.