

TRABAJO DE FIN DE GRADO

Nuevas terapias en la enfermedad de Parkinson. El papel de la autofagia.

Autor:

Adrián Miguel Sosa Pérez

Tutor:

Ignacio de la Cruz Muros



Facultad de Farmacia
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

ÍNDICE

1. Resumen.	3
2. Abstract.....	3
3. Metodología.....	4
4. Contexto histórico.	4
4.1 Introducción	4
4.2 Etiología	4
4.3 Importancia socioeconómica.....	5
4.4 Diagnóstico y tratamiento	5
4.5 EP y autofagia.....	6
5. Los cuerpos de Lewy.....	7
6. Genética de la EP.....	8
7. Vías de desarrollo en el tratamiento.	9
8. Conclusiones.	12
9. Bibliografía.	13

1. Resumen.

Actualmente, la enfermedad del Parkinson (EP) es la segunda enfermedad neurodegenerativa con mayor incidencia. Se caracteriza por la degeneración de las neuronas dopaminérgicas y descenso de dopamina. Los tratamientos actuales, aunque mejoran los síntomas, no retrasan el desarrollo de la enfermedad. Y aunque la causa de la enfermedad es aún desconocida, sabemos que la autofagia tiene un papel esencial en el desarrollo de la enfermedad. En este trabajo describiremos las principales características de la enfermedad, el mecanismo de autofagia, como influye este mecanismo en la enfermedad del parkinson, así como describiremos nuevas vías de investigación y fármacos que prometen ser el futuro de la enfermedad de Parkinson.

2. Abstract.

Nowadays, parkinson's disease is the second neurodegenerative disease with the highest incidence. It is characterized by the degeneration of dopaminergic neurons and the descent of dopamine. Current treatments, although they improve symptoms, it don't delay the development of the disease. And although the cause of the disease is still unknown, we know that autophagy plays an essential role in the development of the disease. In this work we will describe the main characteristics of the disease, the mechanism of autophagy, relation the mechanism with Parkinson's disease, and describe new research and drugs that promise to be the future of Parkinson's disease.

3. Metodología.

Muchos de los datos numéricos de la presente revisión se han obtenido directamente del libro: “El Parkinson” de Carmen Gil y Ana Martínez donde he desarrollado todos los conocimientos necesarios de la enfermedad. Para la revisión bibliográfica de los artículos científicos originales se utilizaron las bases de datos más habituales: PMC y PubMed. He empezado la búsqueda con las palabras clave “Autophagy and Parkinson”, filtrando los artículos de los últimos 5 años. He seleccionado varios artículos de interés, además de consultar otras fuentes para apoyar la información como la revista genética médica.

4. Contexto histórico.

4.1 Introducción

La EP fue descrita por primera vez en 1817 por James Parkinson (Parkinson, 1817), en su artículo *An essay on the shaking palsy* (*Un ensayo sobre la parálisis agitante*) donde explicaba la clínica de seis pacientes suyos que presentaban síntomas característicos. Años después el neurólogo francés Jean-Martin Charcot acuña la enfermedad con el termino Parkinson. Nombre que perdura hasta nuestros días.

Hoy en día, la definimos como un trastorno neurodegenerativo invalidante que se caracteriza clínicamente por temblor de reposo, rigidez y acinesia, y desde el punto de vista anatomopatológico y neuroquímico por la degeneración de las neuronas dopaminérgicas mesoestriatales y el descenso de los niveles de dopamina en el estriado.^{1,2,3} Cuando los niveles de estas neuronas descienden, los receptores dopaminérgicos situados en el cuerpo estriado no se estimulan correctamente y esto produce los principales síntomas de la EP. En los cerebros post-mortem de los enfermos también se han encontrado hallazgos que finalmente se han convertido en uno de los sellos más importantes de la enfermedad. La presencia de unos agregados multiproteicos, entre los que destacan la alfa-sinucleína, conocidos como cuerpos de Lewy (LB).

4.2 Etiología

A pesar de existir formas juveniles y familiares de la EP en las que se han identificado unas bases genéticas, la etiología de su forma esporádica, que se presenta a partir de la sexta década de la vida y que constituye más del 90% de los casos continúa siendo desconocida.^{4,5,6} Históricamente la EP era considerado un trastorno exclusivamente motor, sin embargo, en la actualidad y gracias al aumento en la esperanza de vida de los pacientes se ha comprobado

que en estadios avanzados de la enfermedad aparecen otros trastornos no motores como los problemas de aprendizaje, memoria, expresión, trastornos del sueño y depresión entre otros.

La EP es universal y afecta por igual a hombres y mujeres, no existiendo diferencias raciales. Existen diversos factores de riesgo como son la edad avanzada, historial familiar, lesión craneal, exposición a pesticidas, también hay otros factores protectores como pueden ser café y té, ácido úricos y ureatos, fármacos antiinflamatorios, niveles colesterol, vitamina D y ejercicio físico.⁷

4.3 Importancia socioeconómica

La EP es la segunda enfermedad neurodegenerativa con mayor incidencia después de la enfermedad de Alzheimer. El rango de edad donde predomina la enfermedad va desde los 50-70 años, afectando a 1/1000 personas en todo el mundo, aunque hay estudios que hablan de que estas cifras pueden ser el doble. Según la Sociedad Española de Neurología se calcula que existen unos 150.000 afectados por la EP, además las predicciones nos indican un aumento de la prevalencia de la enfermedad. La EP supone un gran impacto económico para la sociedad, a la propia afección, tenemos que sumar impacto psíquico, disminución calidad de vida, pérdida habilidades sociales, necesidad de cuidado y la enorme atención social y sanitaria. En EE. UU. se estima un coste total de la enfermedad de 14,4 millones de dólares anualmente. Por otro lado, es bien conocido que, durante las últimas décadas, la población de los países industrializados, incluida España, ha sufrido un envejecimiento progresivo. Esto refleja sin duda la existencia de avances en diferentes aspectos de la medicina, pero también conlleva un incremento en la incidencia de enfermedades que aparecen a partir de la sexta década de la vida. Esto hace que a la EP adquiera cada día mayor importancia epidemiológica y se convierta en un importante problema social, sanitario y económico.⁷

4.4 Diagnóstico y tratamiento

El diagnóstico de la enfermedad se basa en la clínica (ya que no se ha identificado ningún marcador biológico) con pruebas de neuroimagen funcional que sirven como apoyo. Se ha demostrado que la mayoría de los pacientes cuando se les diagnostica la enfermedad ya se han deteriorado ente un 60-80% de las células productoras de dopamina de la sustancia negra.

El tratamiento actual de la EP se centra en el tratamiento sintomatológico, en primer lugar, el tratamiento por excelencia es la levodopa, que en nuestro organismo se metaboliza a dopamina. Se suele administrar con benserazida o la carbidopa para evitar los efectos adversos que se producen por la degradación de está fuera del cerebro. Otro problema de la levodopa

es que su efectividad se ve reducida con el paso del tiempo, y entre los 5-7 años se empiezan a producir fluctuaciones motoras.

Además, existen otros tratamientos como son los inhibidores de la monoaminoxidasa o inhibidores del catecol o-metiltransferasa, que son dos enzimas capaces de degradar la dopamina. Por último, se encuentran los agonistas dopaminérgicos utilizados al principio de la enfermedad para retrasar inicio levodopa, y también los anticolinérgicos utilizados para disminuir la actividad de la acetilcolina y ayudan a reducir temblor y rigidez muscular. Otros tratamientos para los síntomas no motores son antidepresivos y ansiolíticos, además existe una alternativa que es el tratamiento quirúrgico solo indicada en el 5% de los pacientes.⁷

4.5 EP y autofagia

La existencia de los LB nos indica que defectos en la ruta autofágica podrían contribuir a la enfermedad. La autofagia es un proceso por el cual la célula media proteínas, agregados y orgánulos disfuncionales se transportan al lisosoma para su degradación. La macroautofagia es la más común, y comienza con la formación de una estructura de doble membrana denominado fagóforo, que va alojando en su interior componentes citoplasmáticos, para formar una vesícula denominada autofagosoma. Estos se fusionan con los lisosomas y se produce la degradación. Durante el desarrollo de la EP se ha observado acumulación de autofagosomas y deficiencia de lisosomas en cerebros de pacientes de Parkinson postmortem. Además, la evidencia más clara de la relación que existe entre la autofagia defectuosa y la EP, nos la proporciona la genética. Hay aproximadamente un 10% de casos con un origen genético claro y son debidos a mutaciones en una serie de genes (LRRK2, alfa-sinucleína, VPs35, PINK1, parkina), donde todas estas se asocia con la ruta autofágica-lisosomal.

Por lo tanto, un mal funcionamiento de la autofagia produciría un acumulo de agregados que interferirían en el funcionamiento de la célula causando su muerte. Si un fármaco llegase a aumentar la autofagia en esas neuronas afectadas por la EP sin afectar a otros tejidos, sin llegar a producir una degradación excesiva de componentes celular y sin afectar otros procesos biológicos, encontraríamos un tratamiento alternativo con mucho potencial para la EP. El tratamiento ideal para los estadios iniciales debería ser un tratamiento neuroprotector capaz de proteger a las neuronas de la muerte y que por tanto frenase o revirtiese el curso de la enfermedad. Son muchos los fármacos en desarrollo e investigaciones actuales para conseguir una mejora en los pacientes, la autofagia, neuroprotección, terapia génica, inmunoterapia, medicina regenerativa, terapia celular los pilares en los que se basa el futuro de la enfermedad.⁸

5. Los cuerpos de Lewy.

Los LB son inclusiones de proteínas que contienen oligómero desagregados de muchas proteínas celulares. Las neuritas distróficas (LN) son precursoras de LB y pueden contener depósitos de ubiquitina (Ub) y alfa-sinucleína, que se convierten formalmente en LB y se acumulan en terminales sinápticos y procesos axonales. La alfa-sinucleína es una proteína que se encuentra en los terminales sinápticos y que tiene una importante relevancia en la comunicación entre neuronas y tráfico de vesículas de neurotransmisores, por otro lado, la ubiquitina es una proteína involucrada en el cambio bioquímica de proteínas para dirigir las a la degradación y autofagia.

Existe un criterio modificado que correlaciona la degeneración nigroestriada, el deterioro cognitivo y la disfunción motora con muchos trastornos asociados a los LB. Hay que aclarar que la presencia de los LB no es exclusiva de la EP, sino que aparece en otros trastornos como la demencia con cuerpos de Lewy (DCL). Las vías bioquímicas involucradas en la formación de los LB, en concreto de alfa-sinucleína, está asociada con la desagregación de proteínas y la escisión de proteínas dañadas. La alfa-sinucleína de tipo salvaje es propensa a formar estructuras oligoméricas y prefibrilares que alteran el tráfico lisosomal y la función mitocondrial. En concreto, en las mitocondrias las formas oligoméricas solubles interfieren con el complejo 1 en la cadena de transporte de electrones, generando especies reactivas de oxígeno. Este proceso puede interrumpir la producción de energía para la comunicación de neurotransmisores funcionales entre las neuronas dopaminérgicas del cerebro. Se sabe que en la EP existe una disminución de entre un 30 y un 40% de la actividad del complejo I de la cadena respiratoria mitocondrial⁹. No se conoce cuál es la causa de este descenso, pero existen indicios sobre la implicación de la alfa-sinucleína en este proceso. Llegados a este punto, cabe decir que las neuronas son especialmente dependientes del sistema de fosforilación oxidativa para la producción de energía¹⁰. Cuando el potencial de membrana mitocondrial cae por debajo de los -60 mV, considerándose normal un potencial de membrana de unos -150 mV, se separan las membranas mitocondriales y se abre un poro de permeabilidad transicional (PTP) que liberan al citoplasma especies reactivas de oxígeno (ROS) y proteínas de pequeño tamaño como el citocromo C oxidado y caspasas que actúan como señales proapoptóticas.¹¹

Por otro lado, el sistema Ub- proteasoma y la vía de la autofagia es responsable de la eliminación de formas tóxicas de proteínas desagregadas, incluida el recambio de alfa-sinucleína. Por eso las vías proteolíticas disfuncionales pueden dar lugar a la acumulación de formas

toxicas de alfa-sinucleína y las ubiquitinas pueden ser una manifestación de los intentos de la maquinaria celular para eliminar los componentes celulares dañados y retrasar el inicio de la degeneración neuronal.

Aunque la presencia de los LB es uno de los sellos característicos de la EP se trata de un componente que solo puede proporcionar una pista de la fisiopatología de la enfermedad ya que sólo se encuentran en la autopsia por lo que no resulta un parámetro útil para el diagnóstico clínico de rutina. De igual forma, hay que manifestar que existe controversia a cerca de los LB ya que algunos científicos consideran los LB como marcadores del daño neuronal en curso, pero otros lo consideran como una secuela de productos finales inofensivos del secuestro de moléculas toxicas que pueden o no están directamente involucrados en la apoptosis o la muerte celular.¹²

6. Genética de la EP.

Lo primero que tenemos que poner en manifiesto es que los estudios genéticos en individuos con EP esporádico (la más común de las formas de EP) no resultan convincentes.¹³ Los estudios genéticos en la etiología de la EP confirman que sólo en el 5-10% de los pacientes una teoría genética puede ser aceptada.¹⁴ Sin embargo, estos estudios genéticos han contribuido a descubrir muchos genes relacionados con la EP. Muchos de estos genes se encuentran a su vez relacionados con la regulación de la autofagia.

Existen varios genes ligados al inicio de la EP como puede ser el gen de la apolipoproteína, el gen M del neurofilamento humano que apunta a una teoría citoesquelética.^{15,16} También se han identificados polimorfismos de genes que pueden tener relación con las distintas progresiones de la enfermedad ya que se trata de genes implicados en la función celular o en la muerte neuronal como son la catecol-o-metil transferasa (COMT), la monoamina oxidasa B (MAO-B) o la N-acetiltransferasa (NAT2).¹⁷

Entre las proteínas más implicadas en la patogenia de la EP está la parkina (parkin).¹⁸ La parkin es una proteína de 50 KDa que interactúa con la enzima E2, estando relacionada funcionalmente con la vía proteosómica de la ubiquitina, como ligasa de ubiquitina E3 promoviendo la degradación de proteínas asociadas a vesículas sinápticas.¹⁹ Está demostrado que las proteínas Parkin y PINK1 (serina/treonina-proteína quinasa) esta relacionadas con daño mitocondrial en una variedad de tejidos. Además, PINK1 y parkin son proteínas reguladoras importantes en la mitofagia, pero es poco probable que participen de forma central en todas las formas de la mitofagia, por eso los genes de la EP tiene un papel modulador y no esencial en este proceso

Las mutaciones en el gen de la alfa-sinucleína se describió con alta penetrancia en una extensa familia italo-americana (la familia Contursi) en el cromosoma 4 en la región q21-23.²⁰ La mutación G209A sustituía en la alfa-sinucleína una alanina por treonina. También se encontraron mutaciones de alfa-sinucleína en individuos germanos con EP donde la alanina era mutada a prolina. Estas formas mutadas de la alfa-sinucleína pueden producir una inhibición de la autofagia mediada por chaperonas (CMA), que se compensa con una promoción de la macroautofagia. El deterioro del sistema autofagia en general y de la CMA en particular, es probable que aumente la cantidad de alfa-sinucleína en el cerebro y contribuya al desarrollo de la enfermedad. Además, hay genes adicionales que tienen un papel importante en la macroautofagia y la CMA y puede afectar a la degradación de la alfa-sinucleína. Las mutaciones en la quinasa 2 de repetición rica en leucina (LRRK2) son una causa genética común en la EP de inicio tardía, que tiene un papel regulador en la macroautofagia, aunque hay dudas sobre su mecanismo.

A la vista de estos hallazgos cabe pensar que, si bien no son causantes de la enfermedad al menos en su forma más común, la EP esporádica, existen factores genéticos que sí están relacionados con el curso de la EP. Actualmente los estudios genéticos continúan intentando dilucidar qué relación existe entre estos genes y la EP.²¹

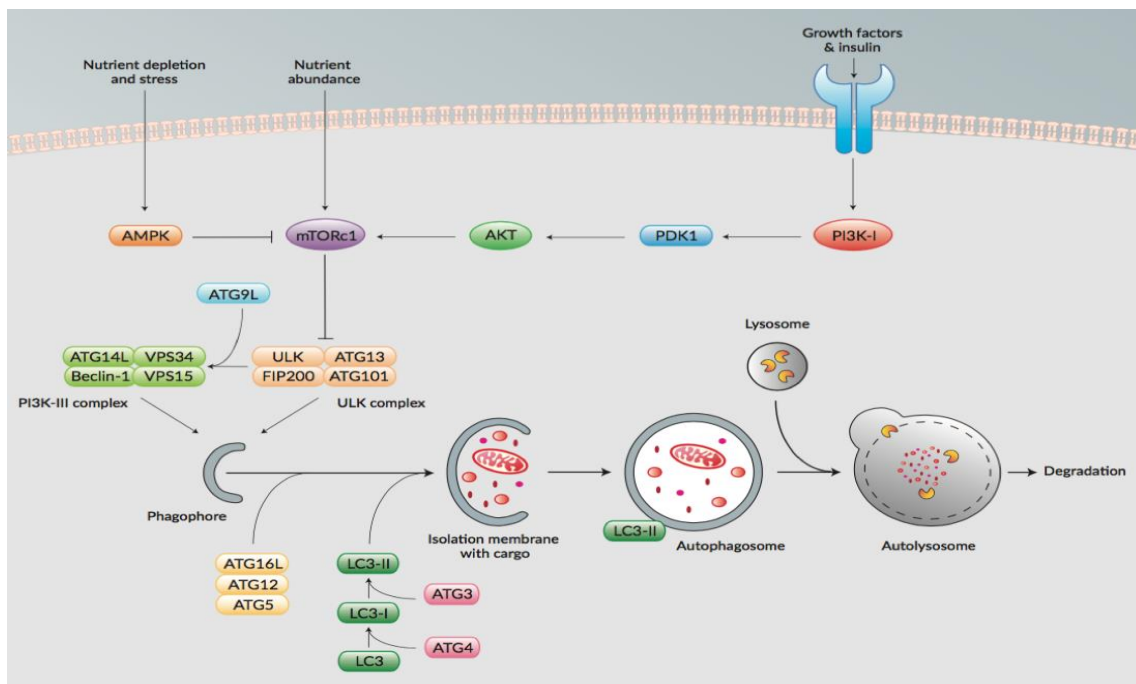
7. Vías de desarrollo en el tratamiento.

Como hemos observado la autofagia desempeña un papel importante en la degradación selectiva de proteínas mal plegada y orgánulos dañados y es el principal objetivo para el desarrollo de un tratamiento eficaz.

En primer lugar, se han encontrado métodos para mejorar la autofagia en varios modelos preclínicos de EP. La serina/treonina quinasa (mTOR) es una proteína componente del complejo mTOR 1 y suprime la autofagia en condiciones ricas en nutrientes. El inhibidor de mTOR, la rapamicina, estabiliza la asociación del complejo y e inactiva la actividad de la quinasa. Este fármaco ha demostrado eficacia para mejorar la actividad de la autofagia en muchos modelos de la enfermedad. La rapamicina suprime selectivamente la actividad de mTOR a través de la desfosforilación de la proteína quinasa B, que es crucial para la supervivencia neuronal en los modelos de EP.

En segundo lugar, la proteína beclin 1, interactúa con la clase III fosfatidilinositol quinasa 3, que desempeña un papel fundamental en la localización de otras proteínas reguladores de la autofagia. Mutaciones que se desarrollan en el dominio relacionado con BH3 en Beclin 1 interrumpen la formación del complejo Beclin 1- BCL-2(Regulador negativo de

Beclin 1), da lugar a una autofagia mejorada. La administración de trehalosa da como resultado una reducción del nivel de la corteza frontal de p62/beclin 1, lo que sugiere un estado elevado de autofagia. También la tunicamicina induce un leve estrés en el retículo endoplasmático, y esto muestra un prometedor potencial en el tratamiento para proteger a las neuronas dopaminérgicas de la muerte. El estrés en el retículo endoplasmático es responsable de la activación de la autofagia a través de las respuestas de proteínas desplegadas. Hay enfoques de terapia génica para manejar la carga de estas proteínas, y así manipular la autofagia de una manera más específica. La terapia con el gen Beclin 1 mediada por lentivirus muestra efectos positivos en el aclaramiento de proteínas de alpha-sinucleína, además de mejorar la función sináptica en modelos de EP. La terapia génica muestra un gran potencial en el aclaramiento de proteínas agregadas anormalmente en otras enfermedades neurodegenerativas a través de la activación de la autofagia.²²



Fuente: Invivo Gen [Recurso Web] Francia; 2017 [Consultado 30 mayo de 2019]. Disponible en: <https://www.ibiantech.com/catalogos/invivogen-insight-newsletter-2017.pdf>

Por último, la atremorine es un novedoso bioproducto obtenido mediante procedimientos biotecnológicos no desnaturizantes a partir de componentes estructurales de *Vicia Faba L.*, que es utilizado para la prevención y tratamiento de trastornos parkinsonianos. Estudios preclínicos nos indican un potente efecto neuroprotector centrado en las neuronas dopaminérgicas, que revierte la neurodegeneración y mejora la función motora en modelos animales en la EP. Un estudio sobre el efecto de la atremorine en neurotransmisores nos indica un aumento de los niveles de dopamina, noradrenalina y

adrenalina, y no se registra un efecto aparente en la serotonina. En el primer estudio clínico se demuestra un aumento de la dopamina plasmática en un 100% de los casos con una dosis de 5 gramos/día de atremorine, esto se puede deber al rico contenido de L-Dopa natural de la composición de la atremorine. Se postula como una opción prometedora para minimizar el fenómeno del desgaste, además de extender el efecto terapéutico de los fármacos convencionales y reducir los posibles efectos secundarios, ya que al administrar atremorine con otros fármacos se permite la reducción de un 25-50% de la dosis de fármacos.

El aumento de noradrenalina inducido por atremorine contribuye a la mejoría clínica y la neuroprotección, ya que este neurotransmisor ejerce efectos críticos en la modulación de diferentes tipos de comportamientos como el ciclo sueño-vigilia, depresión, ansiedad, funciones psicomotoras, respuestas antiinflamatorias en las células gliales, actividad neurotrófica y neuroprotección contra la formación de radicales libres. Además, la disfunción cardiovascular en los pacientes con EP, pueden ser debidos a los bajos niveles de noradrenalina y adrenalina en el plasma, lo que la atremorine también mejoraría estos síntomas, así como también otros como el estreñimiento y otras alteraciones de la motilidad gastrointestinal mediada por mecanismos catecolaminérgicos.²³

8. Conclusiones.

A pesar de llevar más de 2 siglos descrita la EP sigue siendo un reto para investigadores y profesionales de la medicina en todo el mundo. Son muchos los aspectos de la EP que aún desconocemos lo cual permite que haya muchas posibilidades para desarrollar nuevos fármacos y tratamientos con el fin de no sólo detener sino también revertir los efectos causados por el daño neuronal. Dentro de estas nuevas estrategias podemos asegurar que unos de los puntos clave puede estar en el mecanismo de autofagia y los factores genéticos relacionados, esto supondría un vuelco en la calidad de vida de los pacientes con EP. Aunque todos estos métodos terapéuticos son enfoques novedosos y prometedores para la EP, el escenario es complejo porque la alteración en ciertos pasos reguladores de la autofagia puede modificar homeostasis de la célula, contribuyendo al desarrollo de la enfermedad. Por lo que es fundamental que este proceso biológico se regule con precisión y se controle estrictamente. También se necesita más investigación sobre los efectos centrales y periféricos de la atremorine, teniendo en cuenta que los efectos de la atremorine involucran tanto a los genes asociados a la neurodegeneración, como a los genes de la familia del citocromo P450 asociados con el metabolismo de los medicamentos.

Con todos estos datos la principal conclusión de este trabajo es que a pesar de que el panorama invita a ser optimistas aún estamos lejos de poder asegurar el fin de la EP a corto plazo. Por ello no hay que escatimar en dinero ni en esfuerzos para poder proseguir con la investigación biomédica que nos debe llevar a encontrar después de 200 años a la cura de la que hoy en día continúa siendo el segundo trastorno neurodegenerativo más importante.

9. Bibliografía.

1. Hughes AJ, Daniel SE, Kilford L, Lees AJ. Accuracy of clinical diagnosis of idiopathic Parkinson's disease: a clinico-pathological study of 100 cases. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1992 Mar;55(3):181-4
2. Jellinger K. Overview of morphological changes in Parkinson's disease. *Adv Neurol*. 1987;45:1-18.
3. Kish SJ, Shannak K, Hornykiewicz O. Uneven pattern of dopamine loss in the striatum of patients with idiopathic Parkinson's disease. Pathophysiologic and clinical implications. *N Engl J Med*. 1988 Apr 7;318(14):876-80.
4. Broussolle E, Thobois S. [Genetics and environmental factors of Parkinson disease]. *Rev Neurol (Paris)*. 2002 Dec;158 Spec no 1:S11-23. Review
5. Burke RE. alpha-Synuclein and parkin: coming together of pieces in puzzle of Parkinson's disease. *Lancet*. 2001 Nov 10;358(9293):1567-8.
6. de Lau LM, Breteler MM. Epidemiology of Parkinson's disease. *Lancet Neurol*. 2006 Jun;5(6):525-35. Review
7. Gil C., Martínez A. *El Parkinson*. Madrid: CSIC, catarata: 2015
8. (Rivero-Ríos P, et al. Targeting the autophagy/lysosomal degradation pathway in Parkinson's disease. *Curr. Neuropharmacol*. 2016)
9. Schapira AH, Cooper JM, Dexter D, Clark JB, Jenner P, Marsden CD. Mitochondrial complex I deficiency in Parkinson's disease. *J Neurochem*. 1990 Mar;54(3):823-7.
10. Cortopassi GA, Wong A. Mitochondria in organismal aging and degeneration. *Biochim Biophys Acta*. 1999 Feb 9;1410(2):183-93. Review.
11. Tatton NA, Maclean-Fraser A, Tatton WG, Perl DP, Olanow CW. A fluorescent double-labeling method to detect and confirm apoptotic nuclei in Parkinson's disease. *Ann Neurol*. 1998 Sep;44(3 Suppl 1):S142-8. Review.
12. Rocha Cabrero F, Morrison EH. Lewy Bodies. [Updated 2019 Jan 25]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2019 Jan.
13. Gasser T. Genetics of Parkinson's disease. *J Neurol*. 2001 Oct;248(10):833-40. Review.

14. Golbe LI. The genetics of Parkinson's disease: a reconsideration. *Neurology*. 1990 Oct;40(10 Suppl 3):suppl 7-14; discussion 14-6. Review.

15. Zarepari S, Camicioli R, Sexton G, Bird T, Swanson P, Kaye J, Nutt J, Payami H. Age at onset of Parkinson disease and apolipoprotein E genotypes. *Am J Med Genet*. 2002 Jan 15;107(2):156-61.

16. Lavedan C, Buchholtz S, Nussbaum RL, Albin RL, Polymeropoulos MH. A mutation in the human neurofilament M gene in Parkinson's disease that suggests a role for the cytoskeleton in neuronal degeneration. *Neurosci Lett*. 2002 Mar 29;322(1):57-61.

17. Biłatecka M, Drożdżik M, Podraza H. Role of gene polymorphism of catechol-O-methyltransferase (COMT), monoamine oxidase B (MAOB), cytochrome P450 2D6 (CYP2D6) and N-acetyltransferase 2 (NAT2) in pathogenesis of Parkinson's disease. *Neurol Neurochir Pol*. 2002 Jan-Feb;36(1):113-21. Review.

18. Taylor JP, Hardy J, Fischbeck KH. Toxic proteins in neurodegenerative disease. *Science*. 2002 Jun 14;296(5575):1991-5. Review.

19. Zhang Y, Gao J, Chung KK, Huang H, Dawson VL, Dawson TM. Parkin functions as an E2-dependent ubiquitin- protein ligase and promotes the degradation of the synaptic vesicle-associated protein, CDCrel-1. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000 Nov 21;97(24):13354-9.

20. Polymeropoulos MH, Higgins JJ, Golbe LI, Johnson WG, Ide SE, Di Iorio G, Sanges G, Stenroos ES, Pho LT, Schaffer AA, Lazzarini AM, Nussbaum RL, Duvoisin RC. Mapping of a gene for Parkinson's disease to chromosome 4q21-q23. *Science*. 1996 Nov 15;274(5290):1197-9.

21. Beilina A, Cookson MR. Genes Associated with Parkinson's disease: regulation of autophagy and beyond. *J. Neurochem (USA)*. 2016; 139 (Suppl. 1): 91-107

22. Gao F, Yang J, Wang D, et al. Mitophagy in Parkinson's Disease: Pathogenic and Therapeutic Implications. *Front Neurol*. 2017;8:527. Published 2017 Oct 4. doi:10.3389/fneur.2017.00527

23. Cacabelos R. Neurotransmitter and Hormonal Response in Parkinson's Disease. *Journal of Exploratory Research in Pharmacology* 2016;1(1):1-12.

